

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK
DAUN *Acalypha indica* L. DENGAN
EKSTRAKSI BERTINGKAT SECARA *IN*
VITRO TERHADAP *Plasmodium falciparum***



TESSA APRILIA PRANITASARI

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMAKOLOGI DAN FITOKIMIA
SURABAYA**

2016

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK
DAUN *Acalypha indica* L. DENGAN
EKSTRAKSI BERTINGKAT SECARA *IN*
VITRO TERHADAP *Plasmodium falciparum***



TESSA APRILIA PRANITASARI

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMAKOLOGI DAN FITOKIMIA
SURABAYA**

2016

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul:

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN
Acalypha indica L. DENGAN EKSTRAKSI BERTINGKAT
SECARA *IN VITRO* TERHADAP *Plasmodium falciparum***

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 23 September 2016



Tessa Aprilia Pranasari

NIM : 051211131057

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Tessa Aprilia Pranitasari

NIM : 051211131057

Fakultas : Farmasi

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir yang saya tulis dengan judul:

UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN

***Acalypha indica* L. DENGAN EKSTRAKSI BERTINGKAT**

SECARA *IN VITRO* TERHADAP *Plasmodium falciparum*

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 23 September 2016



Tessa Aprilia Pranitasari

NIM : 051211131057

mbar Pengesahan

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK
DAUN *Acalypha indica* L. DENGAN
EKSTRAKSI BERTINGKAT SECARA IN VITRO
TERHADAP *Plasmodium falciparum***

SKRIPSI

**ibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2016

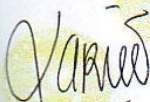
Oleh :

TESSA APRILIA PRANITASARI

NIM : 051211131057

**Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 23 September 2016 oleh :**

Pembimbing Utama



Dr. Vivid Ekasari, Apt., M.Si
NIP. 196901221994032001

Pembimbing Serta



Drs. Abdul Rahman, Apt., M.Si
NIP. 19505131987011001

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan dengan sebaik-baiknya.

Dengan selesainya usulan skripsi yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN *Acalypha indica* L. DENGAN EKSTRAKSI BERTINGKAT SECARA *IN VITRO* TERHADAP *Plasmodium falciparum*” ini, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas segala nikmat, karunia dan ridha-Nya, atas segala kemudahan serta kekuatan untuk menghadapi segala tantangan dan ujian dalam proses pengerjaan skripsi.
2. Dr. Wiwied Ekasari, M.Si selaku pembimbing utama dan ketua proyek penelitian (PUPT DIKTI 2016) dan Drs. Abdul Rahman, Apt., M.Si. selaku dosen pembimbing serta saya, yang dengan ikhlas dan penuh kesabaran membimbing dan meluangkan waktunya serta memberi saran serta dukungan moril maupun materiil kepada saya sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.
3. Prof. Dr. H. Mohammad Nasih, MT., SE., Ak., selaku rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada mahasiswa untuk menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Hj. Umi Athiyah, M.S., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan program skripsi kepada mahasiswa sehingga saya mendapatkan pengalaman dan pembelajaran yang luar biasa dalam proses pengerjaan skripsi.

5. Ayah dan ibu saya yang senantiasa mendoakan dan memberikan semangat serta motivasi kepada saya supaya tidak mudah putus asa dan tidak takut dalam proses mengerjakan skripsi ini.
6. Dr. Mulja Hadi Santosa, Apt. dan Rice Disi Oktarina, S. Farm., M. Farm., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan usulan agar skripsi ini dan saya secara pribadi menjadi lebih baik lagi.
7. Lusiana Arifianti, S. Farm, M. Farm., Apt. selaku dosen wali yang selalu memberikan saran dan motivasi dalam menyelesaikan studi.
8. Mbak Nur Aini yang telah banyak membantu secara teori maupun teknis untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Anggota tim antimalaria *in vitro* dan tim rotarod antara lain Aisyah, Dwi, Bening, Annisa, Enita atas kerja sama, teguran, pelajaran sosial dan motivasinya dalam proses pengerjaan skripsi ini.
10. Kakak tingkat 2011 mbak Rena, mbak Nindy, mbak Nisa dan mbak Lina yang telah membantu saya secara teori maupun praktek dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Bu Unik selaku salah seorang yang bekerja di bagian determinasi tanaman di UPT Materia Medica yang banyak membantu dalam memperoleh daun *Acalypha indica* L. (anting – anting) dan determinasinya.
12. Pak Iwan, Pak Jarwo, Pak Parto, Mas Eko, dan Pak Lismo selaku laboran Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang bersedia direpotkan dalam hal penggunaan instrumen, surat ijin, peminjaman laboratorium guna pengerjaan skripsi ini.

13. Para pejuang skripsi terutama di laboratorium hewan coba Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang bersama-sama menempuh perjalanan panjang skripsi.
14. Rekan-rekan angkatan 2012 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, terutama kelas D yang saling menyemangati bersama selama empat tahun ini dalam menjalani studi untuk mencapai gelar sarjana.
15. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang secara langsung maupun tak langsung membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, semoga Allah SWT membalas kebaikan dan memudahkan segala urusan bapak dan ibu, serta kawan-kawan sekalian. Saya berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat, baik bagi saya pribadi maupun bagi orang lain di kemudian hari.

RINGKASAN
UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN *Acalypha*
indica* L. DENGAN EKSTRAKSI BERTINGKAT SECARA *IN
VITRO* TERHADAP *Plasmodium falciparum

Tessa Aprilia Pranitasari

Malaria adalah penyakit *reemerging*, yakni penyakit yang menular kembali secara massal dan merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit protozoa dari genus *Plasmodium* yang ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Kasus malaria secara global didunia pada tahun 2000 diperkirakan mencapai 262 juta dan menurun menjadi 214 juta pada tahun 2015 (WHO, 2015). Di Indonesia, API (*Annual Parasite Incidence*) menunjukkan dari tahun 2008 – 2009 menurun dari 2,47 per 1000 penduduk menjadi 1,85 per 1000 penduduk. API tahun 2013 menurun menjadi 1,38 per 1000 penduduk. Dan API pada tahun 2014 menurun menjadi 0,99 per 1000 penduduk yang termasuk dalam wilayah endemis rendah (API 0-1‰) (Kemenkes RI, 2011).

Salah satu upaya pengendalian penyakit malaria yang masih menjadi andalan adalah pengobatan penderita. Pengobatan yang sering diberikan pada penderita yaitu obat-obat golongan kuinolon, golongan artemisin, golongan antibakteri dan golongan antifolat. Akan tetapi menyebarnya resistensi terhadap beberapa obat antimalaria yang digunakan untuk pengobatan dan pencegahan malaria telah menimbulkan banyak masalah. Penemuan obat antimalaria baru menjadi salah satu prioritas utama, terutama yang berasal dari alam sebagai salah satu usaha eksplorasi terhadap kekayaan alam yang di miliki oleh Indonesia. Salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antimalaria adalah *Acalypha indica* L. dari famili Euphorbiaceae. Daun *Acalypha indica* L. dipilih pada penelitian ini karena dari genus *Acalypha* telah ada penelitian sebelumnya yaitu uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* yang menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah tannin, alkaloid, dan steroid (Hayati *et al.*, 2012). Selain uji aktivitas antimalaria secara *in vivo*, terdapat penelitian uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan batang *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol dan tanin dengan IC₅₀ untuk daun *Acalypha*

indica L. sebesar 50-100 µg/mL, dan ekstrak etanol batang *Acalypha indica* L. sebesar 43,81 µg/mL (Inbaneson *et al.*, 2012).

Daun *Acalypha indica* L. diekstraksi secara maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan etanol 96%. Dengan ketiga pelarut tersebut diharapkan didapatkan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antimalaria pada genus *Acalypha*, seperti tannin, alkaloid, dan steroid. Uji aktivitas antimalaria dilakukan secara *in vitro* dengan parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dimana spesies dan strain ini merupakan yang paling banyak menyebabkan kematian dan sensitif terhadap klorokuin. *P. falciparum* dibiakkan dengan metode Trager dan Jensen (1976). Ekstrak daun *Acalypha indica* L. dilarutkan dalam DMSO dan dimasukkan dalam *microwell* kemudian ditambahkan suspensi parasit sehingga didapatkan konsentrasi sampel sebesar 100, 10, 1, 0,1, 0,01 µg/mL dan diinkubasi 48 jam. Untuk mengamati persen parasitemia dibuat preparat hapusan darah dengan pewarnaan Giemsa.

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data dengan analisis probit, didapatkan nilai IC_{50} sebesar 13,14 µg/mL untuk ekstrak kloroform. Menurut Chinchilla *et al.* (2012), nilai tersebut termasuk kategori aktivitas antimalaria aktif. Sedangkan ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol 96% didapatkan nilai $IC_{50} > 100$ µg/mL. Menurut Chinchilla *et al.* (2012), nilai ini termasuk kategori inaktif. Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa aktif antimalaria dari ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L..

ABSTRACT

In Vitro* Antimalarial Activity of some Extract from *Acalypha indica* L. Leaves Against *Plasmodium falciparum

Tessa Aprilia Prinitasari

The world's malaria cases in 2000 estimated at 262 million and decreased to 214 million in 2015. The treatments used previously were quinolone, artemisin, antibacterial and antifolate. The spread of resistance to some antimalarial drugs had caused many problems. The invention of new antimalarial drugs to be one of the main priorities, particularly from natural origin. One of the plants that have antimalarial activity is *Acalypha indica* L. from Euphorbiaceae family. This study was aimed to evaluate the *in vitro* antimalarial activity of n-hexane extract, chloroform extract, and 96% ethanolic extract of *Acalypha indica* L. leaves. The n-hexane, chloroform, and 96% ethanolic extracts were obtained by multiple maceration of powdered dried *Acalypha indica* L. leaves and the assay was done using 3D7 strain of *Plasmodium falciparum*. The concentration of assay solutions are 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,1 µg/mL, and 0,01 µg/mL. Among the extracts, chloroform extract showed active antimalarial activity with IC₅₀ value of 13,14 µg/mL, while n-hexane and 96% ethanolic extracts showed inactive antimalarial activity with IC₅₀ > 100 µg/mL.

Keywords: *Acalypha indica* L., *Plasmodium falciparum* 3D7, antimalarial activity, *in vitro*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang <i>Acalypha indica</i> L	8
2.1.1 Kalasifikasi <i>Acalypha indica</i> L.	8
2.1.2 Nama Daerah <i>Acalypha indica</i> L.	9
2.1.3 Morfologi <i>Acalypha indica</i> L.	9
2.1.4 Kandungan Kimia <i>Acalypha indica</i> L.	10
2.1.5 Khasiat <i>Acalypha indica</i> L.	10
2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak	11
2.2.1 Definisi Ekstrak	11
2.2.2 Proses Pembuatan Ekstrak	11
2.2.3 Metode Ekstraksi	14
2.3 Tinjauan Tentang Malaria	15
2.3.1 Definisi Malaria	15
2.3.2 Patogenesis Malaria	17

2.3.3	Klasifikasi Antimalaria	18
2.4	Tinjauan Tentang <i>Plasmodium falciparum</i>	20
2.4.1	Klasifikasi <i>Plasmodium falciparum</i>	20
2.4.2	Morfologi <i>Plasmodium falciparum</i>	20
2.4.3	Siklus Hidup <i>Plasmodium falciparum</i>	22
2.5	Tinjauan Tentang Pembiakan	24
2.6	Tinjauan Tentang Skrining Fitokimia	25
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL		
3.1	Landasan Teoritik	26
3.2	Skema Kerangka Konseptual	28
BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1	Sampel Penelitian	29
4.2	Variabel Penelitian	29
4.2.1	Variabel Bebas	29
4.2.2	Variabel Tergantung	29
4.2.3	Variabel Kendali	29
4.3	Jenis dan Rancangan Penelitian	29
4.3.1	Jenis Penelitian	29
4.3.2	Rancangan Penelitian	30
4.4	Bahan Penelitian dan Alat Penelitian	32
4.4.1	Bahan Penelitian	32
4.4.2	Alat Penelitian	33
4.5	Prosedur Penelitian	34
4.5.1	Persiapan Ekstrak n-Heksana, Ekstrak Kloroform, dan Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Acalypha indica</i> L.	34
4.5.2	Prosedur Pembiakan <i>Plasmodium falciparum</i>	36
4.5.3	Kultivasi <i>Plasmodium falciparum</i>	38
4.5.4	Pengamatan Pertumbuhan <i>P. falciparum</i>	40

4.5.5	Pengujian Aktivitas Antimalaria	41
4.5.6	Pengamatan Hasil	46
4.5.7	Pengolahan Data	47
4.5.8	Skrining Fitokimia	48
BAB V HASIL PENELITIAN		
5.1	Hasil Ekstraksi Daun <i>Acalypha Indica</i> L. Secara Maserasi.....	51
5.2	Hasil Uji Aktivitas Antimalaria.....	51
5.3	Hasil Profil Kromatogram Ekstrak N- heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Acalypha indica</i> L ..	53
5.4	Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kloroform Daun <i>Acalypha indica</i> L.	58
BAB VI PEMBAHASAN		61
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		
7.1	Kesimpulan.....	66
7.2	Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN		70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Kandungan kimia ekstrak daun <i>Acalypha indica</i> L. secara kualitatif	8
II.2 Karakteristik morfologi <i>P.falciparum</i>	17
V.1 Berat dan rendemen hasil ekstraksi daun <i>Acalypha indica</i> L. secara maserasi dengan berat bahan awal ekstraksi 50 gram dan perbandingan pelarut 1 : 5 b/v	51
V.2 Rata-rata persen parasitemia pada uji aktivitas antimalaria secara <i>in vitro</i> terhadap <i>P.falciparum</i> setelah pemberian ekstrak daun <i>Acalypha indica</i> L. dan diinkubasi selama 48 jam. Presentase parasitemia dihitung dengan 5000 eritrosit	51
V.3 Rata-rata presentase pertumbuhan <i>P. falciparum</i> setelah pemberian ekstrak daun <i>Acalypha indica</i> L. dan diinkubasi selama 48 jam.....	52
V.4 Rata-rata presentase penghambatan <i>P. falciparum</i> setelah pemberian ekstrak daun <i>Acalypha indica</i> L. dan diinkubasi selama 48 jam.....	52
V.5 Nilai IC ₅₀ uji aktivitas antimalaria ekstrak ekstrak n-heksan, ekstrak kloroform, ekstrak etanol 96% dan <i>Acalypha indica</i> L....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Acalypha indica</i> L	8
2.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium sp</i>	24
3.1 Skema Kerangka Konseptul Uji Aktivitas Antimalaria Secara <i>In Vitro</i> Ekstrak N-heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Acalypha indica</i> L Terhadap <i>Plasmodium falciparum</i>	28
4.1 Kerangka Operasional Uji Aktivitas Antimalaria Secara <i>In Vitro</i> Ekstrak N-heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Acalypha indica</i> L Terhadap <i>Plasmodium falciparum</i>	31
4.2 Denah <i>Microwell Plate</i>	45
5.1 Hasil Eluasi Menggunakan Eluen dengan Komposisi N-heksana: Etil Asetat (7:3). (A) Setelah Eluasi, (B) Setelah Eluasi Dilihat dengan Sinar UV pada Panjang Gelombang 254 nm	54
5.2 Profil Kromatogram Ekstrak N-heksana Daun <i>Acalypha indica</i> L	55
5.3 Profil Kromatogram Ekstrak Kloroform Daun <i>Acalypha indica</i> L	56
5.4 Profil Kromatogram Ekstrak Etanol 90% Daun <i>Acalypha indica</i> L	57
5.5 Plat KLT Setelah Dieluasi dengan Eluen Kloroform : Etil Asetat (1 : 1) dan Disemprot dengan Penampak Noda Dragendorff.....	58
5.6 Plat KLT Setelah Dieluasi dengan Eluen N-heksana : Etil Asetat (7 : 3) dan Disemprot dengan Penampak Noda Anisaldehyda Asam Sulfat.....	59

5.7 Plat KLT Setelah Dieluasi dengan Eluen Kloroform : Etil Asetat :
Asam Formiat (0,5 : 9 : 0,5) dan Disemprot dengan Penampak
Noda FeCl_3 60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Data Jumlah Parasitemia	70
2 Cara Perhitungan Persen Parasitemia dan Data Persen Parasitemia	71
3 Cara Perhitungan Persen Pertumbuhan dan Data Persen Pertumbuhan	72
4 Cara Perhitungan Persen Penghambatan dan Data Persen Penghambatan	73
5 Hasil Analisis Probit Ekstrak N-heksana Daun <i>Acalypha</i> <i>indica</i> L	74
6 Hasil Analisis Probit Ekstrak Kloroform Daun <i>Acalypha</i> <i>indica</i> L	78
7 Hasil Analisis Probit Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Acalypha</i> <i>indica</i> L	84
8 Surat Determinasi Daun <i>Acalypha indica</i> L.....	88

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria adalah penyakit *reemerging*, yakni penyakit yang menular kembali secara massal dan merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit protozoa dari genus *Plasmodium* yang ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Penyakit infeksi ini banyak dijumpai di daerah tropis dengan disertai gejala-gejala seperti demam dengan fluktuasi suhu, kurang darah, pembesaran limpa dan adanya pigmen dalam jaringan (Arsin, 2012).

Kasus malaria secara global didunia pada tahun 2000 diperkirakan mencapai 262 juta dan menurun menjadi 214 juta pada tahun 2015 (WHO, 2015). Di Indonesia penyakit malaria masih endemis di sebagian besar wilayah. Pada tahun 2009, KLB (Kejadian Luar Biasa) dilaporkan terjadi di pulau Jawa (Jawa Tengah, Jawa Timur dan Banten), Kalimantan (Kalimantan Selatan), Sulawesi (Sulawesi Barat), NAD dan Sumatera (Sumatera Barat, Lampung) dengan total jumlah penderita adalah 1.869 orang dan meninggal sebanyak 11 orang (Triwulan, 2011). Insiden Malaria pada penduduk Indonesia tahun 2013 adalah 1,9 persen menurun dibanding tahun 2007 (2,9%), tetapi di Papua Barat mengalami peningkatan tajam jumlah penderita malaria. Prevalensi malaria tahun 2013 adalah 6,0 persen. Lima provinsi di Indonesia dengan insiden dan prevalensi tertinggi adalah Papua (9,8% dan 28,6%), Nusa Tenggara Timur (6,8% dan 23,3%), Papua Barat (6,7% dan 19,4%), Sulawesi Tengah (5,1% dan 12,5%), dan Maluku (3,8% dan 10,7%) (Riskesdas, 2013).

Dalam upaya pengendalian penyakit malaria, banyak hal yang sudah maupun sedang dilakukan baik dalam skala global maupun nasional. Selain itu malaria merupakan salah satu indikator dari target Pembangunan Milenium (MDGs), dimana ditargetkan untuk menghentikan penyebaran dan mengurangi kejadian insiden malaria pada tahun 2015 yang dilihat dari indikator menurunnya angka kesakitan dan angka kematian akibat malaria (Triwulan, 2011). Upaya untuk menekan angka kesakitan dan kematian dilakukan melalui program pembrantasan malaria antara lain diagnosis dini, pengobatan cepat dan tepat, surveilans dan pengendalian vektor yang kesemuanya ditujukan untuk memutus mata rantai penularan malaria (Depkes RI, 2008). Upaya penanggulangan penyakit malaria di Indonesia sejak tahun 2007 dapat dipantau dengan menggunakan indikator *Annual Parasite Incidence* (API). Intervensi penyakit malaria dibagi berdasarkan tingkat endemisitas, yaitu Endemis tinggi ($API > 5\%$), endemis sedang ($API 1 - < 5\%$), endemis rendah ($API 0 - 1\%$) dan bebas malaria ($API = 0\%$). (Kemenkes RI, 2011). API dari tahun 2008 – 2009 menurun dari 2,47 per 1000 penduduk menjadi 1,85 per 1000 penduduk. API tahun 2013 menurun menjadi 1,38 per 1000 penduduk. Dan API pada tahun 2014 menurun menjadi 0,99 per 1000 penduduk yang termasuk dalam wilayah endemis rendah ($API 0-1\%$). (Kemenkes RI, 2011).

Salah satu upaya pengendalian penyakit malaria yang masih menjadi andalan adalah pengobatan penderita. Pengobatan yang sering diberikan pada penderita yaitu obat-obat golongan kuinolon, golongan artemisin, golongan antibakteri dan golongan antifolat. Akan tetapi menyebarnya resistensi terhadap beberapa obat antimalaria yang digunakan untuk pengobatan dan pencegahan malaria telah menimbulkan banyak masalah dalam upaya penanggulangan malaria. Pada tahun 1973

di Kalimantan Timur, ditemukan kasus resistensi yaitu resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin untuk pertama kalinya. Sejak saat itu penyebaran resistensi mulai terjadi di sebagian besar wilayah Indonesia. Pada tahun 1990, ditemukan bahwa resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin telah terjadi di seluruh provinsi di Indonesia. Selain itu, juga terjadi resistensi *Plasmodium sp.* terhadap Sulfadoksin-Pirimethamin (SP) di beberapa daerah di Indonesia. Dari penelitian-penelitian lain, telah ditemukan adanya resistensi *P. vivax* terhadap klorokuin (Depkes RI, 2008). Untuk menanggulangi resistensi terhadap beberapa obat antimalaria, pemerintah telah mencanangkan program untuk terapi malaria yaitu mengganti terapi yang telah resisten seperti klorokuin dan SP dengan terapi kombinasi artemisin (*Artemisin Combination Therapy*) atau yang disebut dengan ACT (Depkes RI, 2008). Selain program tersebut, dalam upaya penanggulangan malaria penemuan obat-obat baru terus dikembangkan, baik secara sintetis maupun alamiah.

Sejauh ini belum ditemukan obat malaria yang efektif sehingga usaha penemuan obat antimalaria baru menjadi salah satu prioritas utama, terutama yang berasal dari alam sebagai salah satu usaha eksplorasi terhadap kekayaan alam yang dimiliki oleh Indonesia. Indonesia diakui oleh dunia sebagai Negara yang kaya akan keanekaragaman dan jumlah tanaman obat. Indonesia memiliki 30.000 tanaman berbunga, 7000 spesies tanaman obat dan 940 spesies telah diidentifikasi memiliki sifat sebagai obat (Widyawaruyanti, 2014). Oleh karena itu potensi yang luar biasa ini perlu dieksplorasi dan dieksploitasi untuk kesehatan dan kesejahteraan, khususnya dalam upaya penanggulangan malaria.

Selama ini obat bahan alam yang sering digunakan untuk pengobatan penyakit malaria adalah *Cinchona*, yang lebih dikenal dengan nama kina, yang mengandung senyawa kuinin, kuinidin, kinkonidin dan

kinkonin. Dari keempat senyawa tersebut dilaporkan bahwa terdapat hubungan antara bentuk konformasi kimia dengan aktivitas antimalaria, dimana kuinidin lebih aktif dari pada kuinin terhadap *P. falciparum* dan *P. vivax* (Simanjuntak, 1995). Tanaman lain yang efektif sebagai antimalaria yaitu *Artemisia annua* yang mengandung senyawa artemisin yang merupakan suatu senyawa seskuiterpen lakton peroksida (Simanjuntak, 1995). Artemisin inilah yang sekarang merupakan obat antimalaria yang sangat efektif dan potensial, terutama bila dikombinasi dengan obat antimalaria yang lain (Arsin, 2012). Selain dua tanaman tersebut yang sudah terbukti keefektifannya sebagai antimalaria, ada juga beberapa tanaman lain yang mempunyai aktivitas sebagai antimalaria, salah satunya adalah *Acalypha indica* L.. Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki aktifitas antimalaria, dengan dugaan senyawa yang aktif sebagai antimalaria adalah tanin, alkaloid, dan steroid (Hayati *et al.*, 2012).

Anting-anting (*Acalypha australis* L.) yang merupakan sinonim dari *Acalypha indica* L. dikenal sebagai jenis gulma, tanaman liar yang sering dijumpai di pinggir jalan, lapangan rumput yang tidak terawat bahkan sebagai pengganggu di lahan pertanian. Keberadaannya yang melimpah dan mudah diperoleh inilah yang memberikan peluang tanaman ini dapat ditingkatkan nilai gunanya. Komponen yang terkandung dalam tanaman ini adalah β -sitosterol dan daucosterol (Wei-Fang, 1994), saponin, tannin, flavonoid dan minyak atsiri (Anonim, 2009). Tanaman Anting-anting oleh masyarakat digunakan untuk menyembuhkan penyakit enzema, pendarahan pada rahim, radang kulit (Wei-Fang, 1994), disentri basiler dan disentri amuba, diare, malnutrition, mimisan, muntah darah, berak darah, kencing darah, serta malaria (IPTEKnet, 2005).

Dari genus *Acalypha* telah ada penelitian sebelumnya yaitu uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* yang menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah tanin, alkaloid, dan steroid. Uji aktivitas antimalaria didapatkan hasil penghambatan ekstrak etilasetat terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada dosis 0,01 mg/g bb sebesar 87,19%; pada dosis 0,1 mg/g bb sebesar 84,9% dan pada dosis 1mg/g bb sebesar 90,74% (Hayati *et al.*, 2012). Selain uji aktivitas antimalaria secara *in vivo*, telah ada penelitian uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada tanaman *Acalypha indica* L.. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan batang *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol dan tanin. Pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* daun *Acalypha indica* L. didapatkan IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/mL}$, dan ekstrak etanol batang *Acalypha indica* L. dengan IC_{50} sebesar 43,81 $\mu\text{g/mL}$ (Inbaneson *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya baik uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa *Acalypha indica* L. mempunyai aktivitas sebagai antimalaria, akan tetapi pada uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* pada ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki persen penghambatan yang cukup besar yaitu diatas 80%. Sedangkan pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada ekstrak etanol daun *Acalypha indica* L. IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Chinchilla *et al.*, 2012, aktivitas antimalaria suatu ekstrak dinyatakan sangat aktif bila $IC_{50} < 5 \mu\text{g/ml}$, aktif bila $IC_{50} > 5-50 \mu\text{g/ml}$, kurang aktif bila $IC_{50} > 50-100 \mu\text{g/ml}$, inaktif bila memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. Menurut Chinchilla *et al.*, IC_{50} ekstrak etanol daun *Acalypha indica* L. termasuk kategori kurang aktif antimalaria. Berdasarkan hasil penelitian tersebut ada dugaan bahwa kandungan

senyawa *Acalypha indica* L. yang diekstraksi menggunakan pelarut semipolar lebih berpotensi memiliki aktivitas antimalaria. Hal tersebut sudah terbukti pada uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L.. Akan tetapi tidak semua senyawa yang aktif menghambat pertumbuhan *P. berghei* juga aktif menghambat *P. falciparum*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* menggunakan 3 ekstrak yang berbeda kepolaran untuk mengetahui seberapa besar aktivitas masing-masing ekstrak daun *Acalypha indica* L. terhadap penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*.

Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritas senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Acalypha indica* L.. Pada penelitian sebelumnya senyawa yang diduga aktif sebagai antimalaria pada uji aktivitas antimalaria *Acalypha indica* L. secara *in vivo* yaitu alkaloid, tanin dan steroid yang terkandung dalam ekstrak etil asetat yang bersifat semipolar. Dan senyawa yang diduga aktif pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* ekstrak etanol daun *Acalypha indica* L. yaitu alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol dan tanin. Senyawa senyawa yang diduga aktif tersebut larut dalam pelarut non polar hingga polar. Berdasarkan data tersebut, maka digunakan pelarut dari non polar sampai polar yaitu n-heksana, kloroform, dan etanol 96% untuk uji aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* secara *in vitro*. Karena ada dugaan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Acalypha indica* L. yang dapat larut dalam pelarut non polar sampai polar juga memiliki aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak n-heksan, ekstrak kloroform dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas antimalaria ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. terhadap *P. falciparum* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambahkan penelitian mengenai obat antimalaria alternatif dari bahan alam.
2. Sebagai referensi bagi peneliti lain mengenai uji aktivitas antimalaria daun anting-anting *Acalypha indica* L..
3. Membantu mengembangkan penelitian obat dari bahan alam sebagai pemanfaatan flora lokal Indonesia di bidang kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Acalypha indica* L.

2.1.1 Kalasifikasi *Acalypha indica* L.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha indica</i> L.



Gambar 2.1 *Acalypha indica* L.

2.1.2 Nama Daerah *Acalypha Indica* L.

Nama daerah dari *Acalypha Indica* L. antara lain adalah anting-anting, lelatang, rumput kokosengan (Indonesia); tie xian (Cina); rumput lislis, tjeka mas (Malaysia); bugos, maraotong, taptapiñar (Filipina); *indian nettle*, *Indian copperleaf*, *Indian acalypha* (Inggris) (Plantamor, 2010); Brennkraut (Jerman); alcalifa (Brazil); ricinela (Spanyol) (Chengaiyah *et al.*, 2009).

2.1.3 Morfologi *Acalypha indica* L.

Morfologi dari *Acalypha indica* L. merupakan herba yang tumbuh dalam bentuk semak, tinggi tanaman sekitar 1,5 m dengan batang tegak, bulat, berambut halus dan berwarna hijau. Daunnya merupakan daun tunggal berbentuk belah ketupat, dengan pangkal membulat, tepi bergerigi, ujung-ujungnya runcing dan pertulangan menyirip. Panjang daun 3-4 cm, lebarnya 2-3 cm. Tangkai daun berbentuk silindris dengan panjang 3-4 cm berwarna hijau. Bunganya merupakan bunga majemuk berbentuk bulir dan berkelamin satu, terletak diketiak daun dan ujung cabang. Mahkota bunga berbentuk bulat telur, berambut, dan berwarna hijau merah. Buahnya berbentuk kotak berwarna hitam dengan biji bulat panjang berwarna coklat. Akarnya merupakan akar tunggang berwarna putih kotor (Kemenkes RI, 2011).

2.1.4 Kandungan Kimia *Acalypha indica* L.

Komponen yang terkandung dalam tanaman ini antara lain β -sitosterol dan daucosterol (Wei-Fang, 1994), saponin, tannin, flavonoid dan minyak atsiri (Anonim, 2009).

Tabel II.1 Kandungan kimia ekstrak daun *Acalypha indica* L. secara kualitatif (Mohideen et al., 2012).

No.	Kandungan Kimia	Ekstrak Air	Ekstrak Etanol
1.	Tanin	-	+
2.	Phlobatanin	-	-
3.	Saponin	+	+
4.	Flavonoid	+	+
5.	Terpenoid	+	+
6.	<i>Cardiac glycosides</i>	+	+
7.	Steroid	-	+

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, daun *Acalypha indica* L. mengandung banyak tanin, saponin, terpenoid, alkaloid, phlobatanin yang dikenal baik sebagai antimikroba dan antivirus (Tylor et al., 1996; Oudhia, 2003).

2.1.5 Khasiat *Acalypha indica* L.

Tanaman anting-anting oleh masyarakat digunakan untuk menyembuhkan penyakit enzema, pendaharahan pada rahim, radang kulit (Wei-Fang, 1994). Selain efek farmakologis tersebut, anting-anting dikenal memiliki efek penyejuk (astringen), antiradang, antibiotik, peluruh air seni, menghentikan perdarahan (hemostatik). Selain itu anting-anting sering digunakan sebagai pengobatan disentri basiler

dan disentri amuba, malnutrisi, mimisan, muntah darah, berak darah, kencing darah, dan malaria (IPTEKnet, 2010).

2.2 Tinjauan tentang Ekstrak

2.2.1 Definisi Ekstrak

Dalam buku Farmakope Indonesia Edisi IV disebutkan bahwa ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

2.2.2 Proses Pembuatan Ekstrak

A. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal sebagai berikut:

1. Makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif efisien, namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi.
2. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam, dll.) maka akan timbul panas (kalori) yang

dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair.

B. Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut:

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan

Pada prinsipnya, cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi “*pharmaceutical grade*”. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol dll. (alkohol dan turunannya), heksana dll. (hidrokarbon alifatik), toluen dll. (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), aseton, umumnya digunakan

sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi).

C. Separasi dan pemurnian

Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.

D. Pemekatan / penguapan (vaporasi dan evaporasi)

Pemekatan berarti peningkatan jumlah parsial solut (senyawa terlarut) secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, ekstrak hanya menjadi kental/pekat.

E. Pengeringan ekstrak

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering-rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Ada berbagai proses pengeringan ekstrak, yaitu dengan cara: pengeringan evaporasi, pengeringan vaporasi, pengeringan sublimasi, pengeringan konveksi, pengeringan kontak, pengeringan radiasi, dan pengeringan dielektrik.

F. Rendemen

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

2.2.3 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi antara lain dengan menggunakan pelarut, destilasi uap, dan cara lainnya. Adapun metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut terdiri dari cara dingin dan cara panas.

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi, termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti melakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 – 5 kali bahan.

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut

terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3 -5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengasukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 – 50°C (Depkes RI, 2000).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96 - 98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

2.3 Tinjauan tentang Malaria

2.3.1 Definisi Malaria

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit Plasmodium yang dapat ditandai dengan demam,

hepatosplenomegali dan anemia. Penyakit ini secara alami ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Spesies Plasmodium pada manusia adalah *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, dan *P. malariae* (Depkes RI, 2012).

Ada 4 jenis malaria antara lain:

1. Malaria falciparum (Malaria malignant tertiana), disebabkan oleh *P. falciparum*. Prognosis malaria falciparum buruk dan dapat menyebabkan kematian. Mortalitas malaria ini masih cukup tinggi, yaitu 20-50%.
2. Malaria vivax (Malaria benign tertiana), disebabkan oleh *P. vivax*. Prognosisnya biasanya baik, tidak menyebabkan kematian, tetapi jika tidak diberi pengobatan serangan pertama dapat berlangsung 2 bulan atau lebih, dan rata-rata jika tidak diobati dapat berlangsung selama 3 tahun atau lebih lama, hal ini karena sifat relapsnya, yaitu rekrudesensi dan rekurens.
3. Malaria kuartana, disebabkan oleh *P. malariae*. Umumnya tidak fatal. Namun pasien yang terinfeksi harus tetap diberi terapi antimalaria. Parasitnya ditemukan di daerah tropis maupun subtropis, tetapi frekuensi penyakit di beberapa daerah cenderung rendah.
4. Malaria ovale, disebabkan oleh *P. ovale*. Gejala klinis malaria ovale mirip dengan malaria vivax. Serangannya sama hebat, tetapi penyembuhannya sering secara spontan dan relapsnya lebih jarang. Prognosis malaria ovale penyakitnya ringan dan dapat sembuh sendiri tanpa pengobatan. (Muslim, 2009)

Manifestasi klinis malaria dapat bervariasi dari ringan sampai membahayakan jiwa. Gejala utama demam sering didiagnosis dengan infeksi lain, seperti demam tifoid, demam dengue, leptospirosis, chikungunya, dan infeksi saluran nafas. Adanya trombositopenia sering didiagnosis dengan leptospirosis, demam *dengue* atau tifoid (Depkes RI, 2012).

2.3.2 Patogenesis Malaria

- a. Demam mulai timbul bersamaan dengan pecahnya skizon darah yang mengeluarkan bermacam-macam antigen. Antigen ini akan merangsang sel-sel makrofag, monosit atau limfosit yang mengeluarkan berbagai macam sitokin, antara lain TNF (*Tumor Necrosis Factor*) dan IL-6 (Interleukin-6), yang keduanya akan dibawa aliran darah ke hipotalamus yang merupakan pusat pengatur suhu tubuh dan terjadi demam. Proses skizogoni pada *P. falciparum* memerlukan waktu 36 – 48 jam. Demam pada *P. falciparum* terjadi setiap hari.
- b. Anemia terjadi karena pecahnya sel darah merah yang terinfeksi maupun tidak terinfeksi. *P. falciparum* menginfeksi semua jenis sel darah merah, sehingga anemia dapat terjadi pada infeksi akut dan kronis.
- c. Splenomegali. Limpa merupakan organ retikuloendotelial, dimana Plasmodium dihancurkan oleh sel-sel makrofag dan limfosit. Penambahan sel-sel radang ini menyebabkan limpa membesar (Depkes RI, 2012).

2.3.3 Klasifikasi Antimalaria

Berdasarkan kerjanya pada tahapan perkembangan plasmodium, antimalaria dibedakan atas skizontosid jaringan dan darah; gametosid dan sporontosid. Dengan klasifikasi seperti ini antimalaria dipilih sesuai dengan tujuan pengobatan.

Untuk **mengendalikan serangan klinik** digunakan skizontozid darah yang bekerja terhadap merozoit di eritrosit (fase eritrosit). Dengan demikian tidak terbentuk skizon baru dan tidak terjadi penghancuran eritrosit yang menimbulkan gejala klinik. Contoh golongan obat ini adalah klorokuin, kuinin, meflokuin, halofantrin, dan qinghaosu (artemisinin).

Antimalaria golongan antifolat dan antibiotik, juga merupakan skizontosid darah, tetapi kurang efektif dan kerjanya lambat.

Pengobatan supresi ditujukan untuk menyingkirkan semua parasit dari tubuh pasien dengan memberikan skizontosid darah dalam waktu yang lebih lama dari masa hidup parasit.

Pada **pencegahan kausal** digunakan skizontosid yang bekerja pada skizon yang baru memasuki jaringan hati. Dengan demikian, tahap infeksi eritrosit dapat dicegah dan transmisi lebih lanjut dihambat. Kloroguanid (proguanil) efektif untuk profilaksis kausal malaria falciparum. Pencegahan relaps juga menggunakan skizontosid jaringan. Untuk profilaksis terminal obat tersebut diberikan segera sebelum atau segera sesudah meninggalkan daerah endemik, sedangkan untuk memperoleh penyembuhan radikal, obat

tersebut diberikan selama masa infeksi laten atau selama serangan akut. Pada saat serangan akut, skizontosid jaringan diberikan bersama skizontosid darah.

Primakuin adalah obat prototip yang digunakan untuk mencegah relaps, yang dicadangkan khusus untuk infeksi eritrosit berulang akibat plasmodia yang tersembunyi di jaringan hati.

Pengobatan radikal dimaksudkan untuk memusnahkan parasit dalam fase eritrosit dan eksoeritrosit. Untuk ini digunakan kombinasi skizontosid darah dan jaringan. Tetapi sulit untuk mencapai penyembuhan radikal karena adanya bentuk laten jaringan, kecuali pada infeksi *P. falciparum*. Pengobatan untuk mengatasi serangan klinik infeksi *P. falciparum* juga merupakan pengobatan radikal. Pengobatan ini ditujukan pada pasien yang kambuh setelah meninggalkan daerah endemik.

Gametositid membunuh gametosit yang berada dalam eritrosit sehingga transmisinya ke nyamuk dihambat. Klorokuin dan kina memperlihatkan efek gametosidal pada *P. vivax*, *P. ovale* dan *P. malariae*, sedangkan gametosit *P. falciparum* dapat dibunuh oleh primakuin. **Sporontosid** menghambat perkembangan gametosit lebih lanjut di tubuh nyamuk yang menghisap darah pasien, dengan demikian rantai penularan terputus. Kerja seperti ini terlihat dengan primakuin dan kloroguanid (Gunawan *et al.*, 2007).

2.4 Tinjauan tentang *Plasmodium falciparum*

P. falciparum merupakan penyebab malaria tropika tersiana maligna. Parasit ini ditemukan di daerah tropik, terutama di Afrika dan Asia Tenggara. Parasit ini merupakan spesies paling berbahaya karena penyakit yang ditimbulkannya dapat menjadi berat. Perkembangan aseksual dalam hati hanya terdapat fase pre-eritrosit, dan tidak memiliki fase eksoeritrosit sekunder yang dapat menimbulkan relaps jangka panjang (rekurens) seperti *P. vivax* dan *P. ovale* (Muslim, 2009).

2.4.1 Klasifikasi *Plasmodium falciparum* (NCBI, 2015)

Kingdom	: Protista
Filum	: Apicomplexa
Kelas	: Aconoidasida
Ordo	: Haemosporida
Famili	: Plasmodiidae
Genus	: <i>Plasmodium</i>
Spesies	: <i>Plasmodium falciparum</i>

2.4.2 Morfologi *Plasmodium falciparum*

A. Morfologi Trofozoit

Trofozoit muda berbentuk cincin kecil 0,1-0,3 kali eritrosit, sitoplasma tampak halus kadang-kadang seperti cincin atau seperti burung terbang di tepi eritrosit (bentuk *accolé*), inti terletak di tepi eritrosit, ukuran kira-kira 2 μ , warna merah, lebih tipis jika dibanding dengan *P. vivax*, kadang-kadang ada 2 inti pada satu cincin (infeksi ganda). Trofozoit dewasa sitoplasmanya pucat, oval atau bulat tidak teratur, sebuah inti yang besar kumpulan pigmen

yang berkabut atau kelompok yang sangat gelap kira-kira sebesar inti. Biasanya hanya dijumpai pada infeksi berat saja. (Muslim, 2009)

B. Morfologi Skizon

Skizon muda mengisi kira-kira separuh dari eritrosit, bentuk agak bulat, inti sudah membelah tetapi belum diikuti sitoplasmanya, dan pigmen malaria sudah mulai tampak di antara inti. Titik-titik Maurer dalam eritrosit menghilang. Skizon tua sitoplasmanya tidak mengisi seluruh eritrosit, kira-kira hanya $\frac{3}{4}$ -nya, inti sudah membelah menjadi 8-24 buah, pembelahan inti diikuti pembelahan sitoplasma sehingga tampak merozoit, pigmen malaria sudah menggumpal di bagian tengah sebelum skizon masak. (Muslim, 2009)

C. Morfologi Gametosit

Mikrogametosit berbentuk pisang atau ginjal, tampak lebih gemuk. Plasma berwarna merah muda, inti lebih besar dan tidak padat, pigmen malaria tersebar di antara inti. Ukuran 2-3 x 9-14 mikrometer. Makrogametosit berbentuk langsing, seperti pisang ambon, plasma warna biru, inti kecil padat (kompak), terletak di tengah, dan pigmen tersebar di sekitar inti. (Muslim, 2009)

Tabel II.2 Karakteristik morfologi *P. falciparum*
(Muslim, 2009)

Bentuk Stadium	Keadaan Eritrosit	Keadaan Parasit
Ring	Normal, sering dijumpai lebih dari satu parasit dalam eritrosit	Sitoplasma halus, 1-2 titik kromatin kecil, bentuk bulat seperti cincin
Trofozoit	Normal, jarang, tampak bercak <i>Maurer</i> (di bawah kondisi pewarnaan tertentu)	Jarang terlihat dalam darah perifer, sitoplasma rapi, pigmen berwarna gelap
Skizon	Normal, jarang, tampak bercak <i>Maurer</i> (di bawah kondisi pewarnaan tertentu)	Jarang terlihat dalam darah perifer, matang dengan 8-24 merozoit kecil, pigmen berwarna gelap, menumpuk pada satu bagian
Gametosit	Berubah menyesuaikan bentuk parasit	Seperti sosis atau bulan sabit, kromatin dalam bagian tunggal (makrogametosit) atau menyebar (mikrogametosit), bagian pigmen gelap.

2.4.3 Siklus Hidup *Plasmodium falciparum*

a. Siklus pada Manusia

Pada waktu nyamuk *Anopheles* infeksiif menghisap darah manusia, sporozoit yang berada di kelenjar liur nyamuk akan masuk ke dalam peredaran darah selama

lebih kurang setengah jam. Setelah itu sporozoit akan masuk ke dalam sel hati dan menjadi sporozoit hati. Kemudian berkembang menjadi skizon hati yang terdiri dari 10.000-30.000 merozoit hati. Siklus ini disebut siklus ekso-eritrositer.

Merozoit yang berasal dari skizon hati yang pecah akan masuk ke peredaran darah dan menginfeksi sel darah merah. Di dalam sel darah merah, parasit tersebut berkembang dari stadium trophozoit sampai skizon. Proses perkembangan aseksual ini disebut skizogoni. Selanjutnya eritrosit yang terinfeksi (skizon) pecah dan merozoit yang keluar akan menginfeksi sel darah merah lainnya. Siklus ini disebut siklus eritrositer.

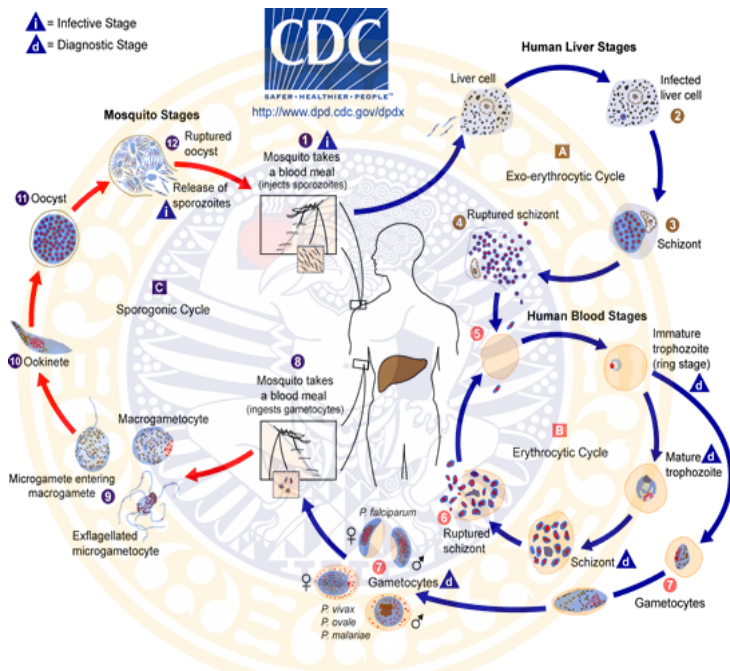
Pada *P. falciparum* setelah 2-3 siklus skizogoni darah, sebagian merozoit yang menginfeksi sel darah merah dan membentuk stadium seksual (gametosit jantan dan betina) (Depkes RI, 2012).

b. Siklus pada nyamuk *Anopheles* betina

Apabila nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah yang mengandung gametosit, di dalam tubuh nyamuk gamet jantan dan betina melakukan pembuahan menjadi zigot. Zigot berkembang menjadi ookinet kemudian menembus dinding lambung nyamuk. Pada dinding luar lambung nyamuk, ookinet akan menjadi ookista dan selanjutnya menjadi sporozoit. Sporozoit ini bersifat infeksius dan siap ditularkan ke manusia.

Masa inkubasi adalah rentang waktu sejak sporozoit masuk ke tubuh manusia sampai timbulnya gejala klinis

yang ditandai dengan demam. Masa inkubasi *P. falciparum* antara 9-14 hari. Masa prepaten adalah rentang waktu sejak sporozoit masuk ke tubuh manusia sampai parasit dapat dideteksi dalam sel darah merah dengan pemeriksaan mikroskopik. (Depkes RI, 2012)



Gambar 2.2 Siklus Hidup *Plasmodium* sp. (Depkes RI, 2008)

2.5 Tinjauan tentang Pemiakan

Pemiakan pertama kali ditemukan oleh Trager dan Jensen (1976). Media pemiakan *P. falciparum* menggunakan *Rosewell Parle Memorial Institute* 1640 (RPMI 1640) yang ditambah dapar *N-2-Hydroxyl Ethyl Piperazin-N-2-Ethane Sulphonic Acid* (HEPES),

glukosa, gentamisin dan natrium bikarbonat. Eritrosit yang mengandung parasit dengan kadar parasitemia tertentu disuspensikan dalam media biak yang lengkap sehingga diperoleh hematokrit 5%. Kemudian dibagi dalam cawan-cawan petri dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ (kadar CO₂ \pm 5%) pada suhu 37°C. Bila menggunakan eksikator, kadar CO₂ berkisar 3%. Penggantian media harus dilakukan setiap hari untuk mendapatkan pembiakan berkesinambungan yang baik dan bila persen parasitemia tinggi maka perlu dilakukan subkultur atau pengenceran dengan penambahan eritrosit. Untuk mengetahui pertumbuhan *P. falciparum* perlu dibuat hapusan darah tipis yang diwarnai dengan Giemsa. Bentuk dan warna diamati dengan mikroskop menggunakan perbesaran 1000 kali. Untuk menghindari kontaminasi bakteri, ke dalam media lengkap ditambahkan Gentamisin 25 mg/L. Kontaminasi bakteri ditandai dengan timbulnya bercak-bercak atau koloni yang berwarna hitam pada media pertumbuhan (Trager dan Jensen, 1976).

2.6 Tinjauan tentang Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah suatu kegiatan menggunakan prosedur tertentu yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu bahan tanaman. Maka dari itu, untuk ekstraksi awal harus digunakan pelarut yang dapat melarutkan banyak senyawa yang bersifat polar, semipolar, atau nonpolar (Depkes RI, 2000).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Landasan Teoritik

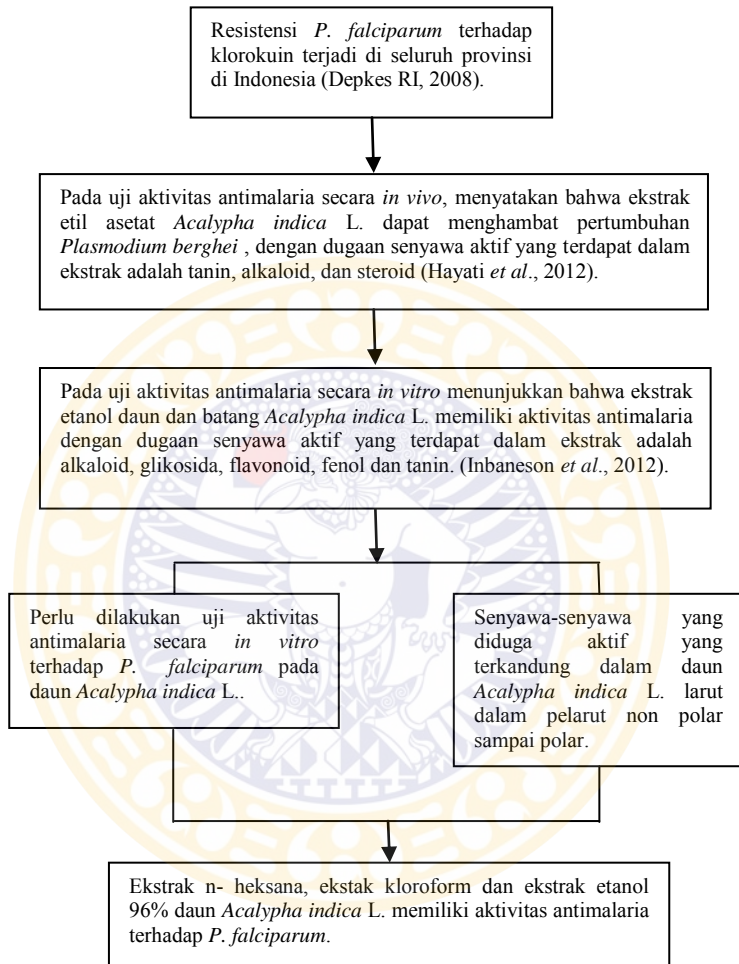
Pada tahun 1990, ditemukan bahwa resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin telah terjadi di seluruh provinsi di Indonesia (Depkes RI, 2008). Oleh karena itu penemuan obat antimalaria baru terutama yang berasal dari bahan alam perlu dieksplorasi dan dieksploitasi untuk kesehatan dan kesejahteraan, khususnya dalam upaya penanggulangan malaria (Widyawaruyanti, 2014).

Dari genus *Acalypha* telah ada penelitian sebelumnya yaitu uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* yang menyatakan bahwa ekstrak etilasetat *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah tannin, alkaloid, dan steroid. Uji aktivitas antimalaria didapatkan hasil penghambatan ekstrak etilasetat terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada dosis 0,01 mg/g bb sebesar 87,19%; pada dosis 0,1 mg/g bb sebesar 84,9% dan pada dosis 1mg/g bb sebesar 90,74% (Hayati *et al.*, 2012). Selain uji aktivitas antimalaria secara *in vivo*, telah ada penelitian uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* pada tanaman *Acalypha indica* L.. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan batang *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria dengan dugaan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak adalah alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol dan tanin. Pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* daun *Acalypha indica* L. didapatkan IC₅₀ 50-100 µg/mL, dan ekstrak etanol batang *Acalypha indica* L. dengan IC₅₀ sebesar 43,81 µg/mL (Inbaneson *et al.*, 2012).

Pada penelitian sebelumnya baik uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria, sehingga ada dugaan bahwa daun *Acalypha indica* L. juga memiliki kandungan senyawa sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* menggunakan 3 ekstrak dengan berbeda kepolaran untuk mengetahui seberapa besar aktivitas masing-masing ekstrak daun *Acalypha indica* L. terhadap penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*.

Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritas senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Acalypha indica* L.. Pada penelitian sebelumnya senyawa- senyawa yang diduga aktif tersebut larut dalam pelarut non polar hingga polar, maka digunakan pelarut dari non polar sampai polar yaitu, n- heksana, kloroform dan etanol 96% untuk uji aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* secara *in vitro*. Karena senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Acalypha indica* L. yang larut dalam pelarut non polar sampai polar memiliki aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum*.

3.2 Skema Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual Uji Aktivitas Antimalaria Secara *In Vitro* Ekstrak N-heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L. Terhadap *Plasmodium falciparum*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L.

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Bebas

Ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L..

4.2.2 Variabel Tergantung

Persentase penghambatan parasit *P. falciparum* strain 3D7.

4.2.3 Variabel Kendali

Suhu inkubasi, durasi inkubasi, persen parasitemia awal.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental quasi.

4.3.2 Rancangan Penelitian

A. Ekstraksi Daun *Acalypha indica* L.

Ekstraksi daun *Acalypha indica* L. dilakukan dengan cara maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana. Kemudian residu serbuk daun *Acalypha indica* L. direndam dengan pelarut kloroform, selanjutnya residu serbuk direndam lagi dengan pelarut etanol 96%.

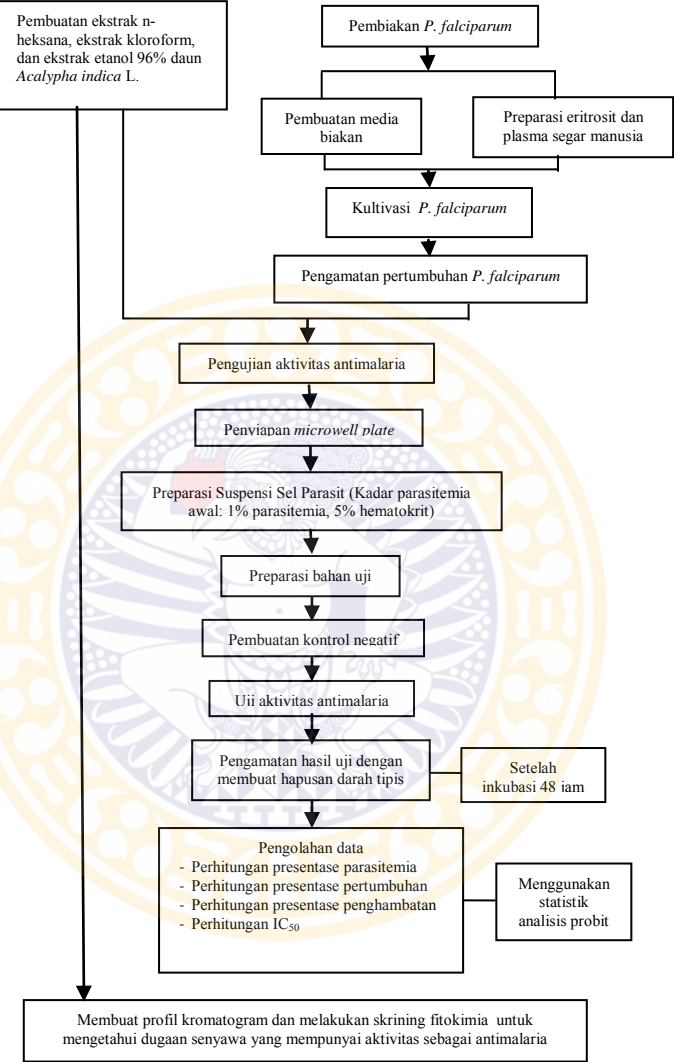
B. Uji Aktivitas Antimalaria *In Vitro* Ekstrak n-Heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L.

Dilakukan persiapan kultur parasit *P. falciparum* dengan metode Trager dan Jensen (1976). Kemudian sampel dipreparasi dengan melarutkannya dalam DMSO kemudian diencerkan dengan media sampai diperoleh 5 konsentrasi berbeda yaitu 100; 10; 1; 0,1; 0,01 µg/mL.

C. Skrining Golongan Senyawa

Skrining dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid, terpenoid, tannin dan steroid dengan pelarut dan pereaksi yang sesuai.

D. Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Uji Aktivitas Antimalaria Secara *In Vitro* Ekstrak N-heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L. Terhadap *Plasmodium falciparum*.

4.4 Bahan Penelitian dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

A. Bahan Tanaman

Daun *Acalypha indica* L. yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dan dideterminasi dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur.

B. Bahan untuk Ekstraksi Daun *Acalypha indica* L.

Pelarut yang digunakan untuk membuat ekstrak daun *Acalypha indica* L. adalah n-heksana (teknis redestilasi), kloroform (teknis redestilasi), dan etanol 96% (teknis redestilasi).

C. Bahan untuk Uji *In Vitro*

Bahan yang digunakan untuk membuat media pembiakan *P. falciparum* dan untuk membuat larutan uji *in vitro* adalah aquadest, HEPES buffer, RPMI 1640, natrium bikarbonat, gentamisin, plasma dan eritrosit manusia, DMSO, pewarna Giemsa, metanol, dan minyak emersi.

D. Biakan *Plasmodium falciparum*

Biakan *P. falciparum* yang digunakan dalam penelitian ini adalah strain 3D7 dan dikembangkan di Laboratorium Malaria Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur.

Untuk mendukung pembiakan *P. falciparum*, digunakan darah segar (*Packed Red Cell*) dan plasma (*Fresh Frozen Plasma*) manusia dengan golongan darah

O positif yang diperoleh dari Palang Merah Indonesia cabang Surabaya, Jawa Timur.

E. Bahan untuk Skrining Golongan Senyawa

Bahan untuk skrining golongan senyawa antara lain adalah akuades, etanol, kloroform, etil asetat, pereaksi FeCl_3 , n-heksana, uap amoniak, pereaksi anisaldehidat, asam sulfat, asam asetat glasial, asam formiat, larutan gelatin, dan larutan NaCl 10%.

4.4.2 Alat Penelitian

A. Alat untuk Pembuatan Ekstrak Daun *Acalypha indica* L.

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun *Acalypha indica* L. adalah corong Buchner, pompa vakum, dan rotavapor.

B. Alat untuk Pembuatan Media dan Pembiakan *P. falciparum*

Alat yang digunakan untuk pembuatan media dan pembiakan *P. falciparum* adalah *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, *candle jar*, mikroskop dengan gelas objek, penyaring membran *micropore* 0,22 μm , erlenmeyer steril, *Beaker glass*, pengaduk magnetis, *sentrifuge*, cawan petri steril, mikropipet 500 μL dan 1000 μL , tabung falcon steril, *yellow tip* steril, *blue tip* steril, dan pinset anatomis.

C. Alat untuk Uji Aktivitas Antimalaria terhadap *P. falciparum*

Alat yang digunakan untuk menguji aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* adalah *microwell plate* (lempeng sumur mikro), mikropipet 500 μL dan 1000 μL , *yellow tip* steril, *blue tip* steril, tabung *falcon*, mikroskop dengan gelas objek, *candle jar*, inkubator, dan *Laminar Air Flow* (LAF).

D. Alat untuk Skrining Golongan Senyawa

Alat yang digunakan untuk skrining golongan senyawa adalah tabung reaksi, bejana eluasi, dan lempeng KLT silika gel GF 254 (Merck).

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Persiapan Ekstrak n-Heksana, Ekstrak Kloroform, dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L.

A. Pembuatan Simplisia Daun *Acalypha indica* L.

1. Daun *Acalypha indica* L. yang telah dipanen disortasi basah, dibilas air untuk membersihkan dari pengotor hingga bersih kemudian ditimbang beratnya.
2. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering, dilakukan sortasi kering dan ditimbang beratnya.
3. Simplisia diserbuk dengan menggunakan blender dan diayak dengan derajat ayakan nomor 40. Selanjutnya ditimbang beratnya.

B. Pembuatan Ekstrak n-Heksana, Ekstrak Kloroform, dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L. secara Maserasi

1. Serbuk simplisia ditimbang 50 gram kemudian direndam dalam pelarut n-heksana 250 ml dalam wadah tertutup dan didiamkan selama 1 hari dengan pengadukan setiap beberapa menit. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan corong Buchner yang telah dihubungkan dengan pompa vakum untuk mendapatkan filtratnya. Serbuk simplisia diambil kemudian direndam kembali dengan pelarut yang sama sebanyak 250 ml dalam wadah tertutup selama 1 hari. Maserasi diulang hingga tiga kali perendaman dengan pelarut yang sama. Selanjutnya, filtrat yang telah didapat dari tiga kali re-maserasi dipekatkan dengan rotavapor dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh berat ekstrak stabil.
2. 50 mg residu serbuk simplisia yang telah kering kemudian direndam dalam pelarut kloroform 250 ml dalam wadah tertutup dan didiamkan selama 1 hari dengan pengadukan setiap beberapa menit. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan corong Buchner yang telah dihubungkan dengan pompa vakum untuk mendapatkan filtratnya. Serbuk simplisia diambil kemudian direndam kembali dengan pelarut yang sama sebanyak 250 ml dalam wadah tertutup selama 1 hari. Maserasi diulang hingga tiga kali perendaman dengan pelarut yang sama. Selanjutnya, filtrat yang telah didapat dari tiga kali re-maserasi dipekatkan dengan rotavapor dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh berat ekstrak stabil.

3. 50 mg residu serbuk simplisia yang telah kering kemudian direndam dalam pelarut etanol 96% 250 ml dalam wadah tertutup dan didiamkan selama 1 hari dengan pengadukan setiap beberapa menit. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan corong Buchner yang telah dihubungkan dengan pompa vakum untuk mendapatkan filtratnya. Serbuk simplisia diambil kemudian direndam kembali dengan pelarut yang sama sebanyak 250 ml dalam wadah tertutup selama 1 hari. Maserasi diulang hingga tiga kali perendaman dengan pelarut yang sama. Selanjutnya, filtrat yang telah didapat dari tiga kali re-maserasi dipekatkan dengan rotavapor dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh berat ekstrak stabil.

4.5.2 Prosedur Pembiakan *Plasmodium falciparum*

I. Pembuatan Media Biakan

Media yang digunakan untuk pembiakan *P. falciparum* secara *in vitro* terdiri dari media tak lengkap dan media lengkap.

A. Pembuatan media tak lengkap sebanyak 1 L

1. *Beaker glass* yang berisi HEPES 5,94 gram dan hipoksantin 50 mg ditambah air steril. Diaduk dan dicampur sampai larut dan homogen selama 1 jam dengan menggunakan pengaduk magnetis.
2. Ditambahkan 1 *sachet* serbuk RPMI berisi 10,4 gram. *Sachet* RPMI dibilas perlahan dengan air steril selama beberapa kali.

3. Ditambahkan air steril sampai dengan volume 1 liter dan dicampur sampai homogen.
 4. Ditambahkan NaHCO_3 sebanyak 2 gram dan diaduk hingga larut.
 5. Dimasukkan Gentamisin 25 mg dan diaduk sampai larut.
 6. Disterilisasi dengan cara disaring menggunakan membran *mipore* 0,22 μm , kemudian disimpan dalam botol steril pada suhu 40°C.
- B. Pembuatan media lengkap sebanyak 50 mL
1. Dimasukkan 42,5 ml media tak lengkap ke dalam tabung falcon bertutup 50 mL yang telah disterilkan terlebih dahulu.
 2. Ditambahkan plasma yang telah dipreparasi sebanyak 7,5 ml, dikocok dengan perlahan sampai tercampur rata sehingga diperoleh media dengan kadar plasma sebesar 15%. Media ini digunakan untuk membiakkan *P. falciparum*.
- II. Preparasi Eritrosit dan Plasma Segar Manusia
- A. Preparasi Eritrosit 50%
1. Diambil 7,5 ml darah, kemudian dimasukkan ke dalam tabung falcon bertutup yang telah disterilkan.
 2. Darah pada tabung falcon dicuci dengan media lengkap dengan cara menambahkan 7,5 ml media lengkap kemudian dilakukan proses sentrifuge pada kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Proses ini diulang sebanyak tiga kali.

3. Darah yang telah dicuci dicampur kembali dengan media lengkap dengan volume yang sama sehingga kandungan eritrosit menjadi 50% dan disebut RBC 50%.

B. Preparasi Plasma Segar Manusia

1. Plasma diaktivasi dengan menginkubasi pada suhu 56°C selama 30 menit.
2. Plasma yang telah diaktivasi kemudian diambil sejumlah 15 ml dan dimasukkan ke dalam tabung falcon bertutup.
3. Dilakukan sentrifuge pada 1500 rpm selama 5 menit untuk mengendapkan fibrin pada plasma.

4.5.3 Kultivasi *Plasmodium falciparum*

A. Prosedur Pencairan (Thawing)

1. Parasit beku *P. falciparum* dihangatkan di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 15 menit sampai mencair.
2. Parasit yang telah mencair disuspensi dengan 2 ml NaCl 3,5% menggunakan mikropipet, lalu dimasukkan dalam tabung falcon steril bertutup 15 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Kemudian supernatan yang didapat dibuang.
3. Parasit dicuci dengan medium tak lengkap kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, bagian supernatan dibuang. Proses ini diulangi dua kali.

4. Parasit kemudian ditambahkan 4 ml media lengkap dan 1 ml RBC 50%, dicampur sampai homogen dengan menggunakan pipet.
5. Suspensi parasit kemudian ditambahkan dalam cawan petri, kemudian diberi label tanggal, bulan, tahun, kadar hematokrit, dan tipe strain parasit.
6. Biakan kemudian dimasukkan ke dalam bejana eksikator yang telah berisi lilin. Lilin dinyalakan kemudian eksikator ditutup rapat. Setelah lilin mati, eksikator dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C. Media biakan diganti dengan media yang baru setiap 24 jam.

B. Prosedur Penggantian Media

1. Diambil larutan media lengkap pada cawan petri yang berisi biakan parasit dengan cara dipipet sebanyak mungkin.
2. Ditambahkan media lengkap baru ke dalam biakan dengan jumlah yang sama dengan yang telah diambil pada tahap (1). Kemudian dicampur hingga merata.
3. Biakan dimasukkan kembali ke dalam candle jar dan diinkubasi pada suhu 37°C.

C. Subkultur

Tujuan subkultur adalah untuk menurunkan kadar parasitemia yang tinggi menjadi lebih rendah sesuai yang diinginkan. Biakan yang telah mencapai kadar parasitemia yang tinggi harus diencerkan dan dipindahkan ke tempat pembiakan yang baru untuk dibiakkan lebih lanjut. Kadar parasitemia awal dibuat sekitar 0,1-0,2% dengan cara

mengencerkan menggunakan RBC 50% hematokrit. Setelah diencerkan, dibuat sediaan hapusan darah tipis untuk menghitung jumlah parasitemianya. Sediaan kemudian diinkubasi kembali dalam inkubator pada suhu 37°C.

4.5.4 Pengamatan Pertumbuhan *P. falciparum*

A. Pembuatan Sediaan Hapusan Darah Tipis

1. Ditetaskan kurang lebih 1 tetes suspensi sel parasit pada gelas objek, lalu dengan bantuan satu sisi *cover glass*, suspensi sel parasit tersebut diratakan. Kemudian dibiarkan di udara terbuka hingga kering.
2. Dilakukan fiksasi hapusan darah tipis tersebut dalam metanol absolut, kemudian diletakkan dalam udara terbuka hingga metanol kering.
3. Pewarna Giemsa 20% dalam aquadest ditetaskan pada hapusan darah tipis hingga menutupi seluruh permukaan hapusan darah, kemudian dibiarkan selama 20 menit lalu dicuci dengan air dan dibiarkan di udara terbuka hingga kering.
4. Setelah sediaan kering, hapusan diperiksa dengan mikroskop pada perbesaran 10 x 100 untuk menghitung parasitemia.

4.5.5 Pengujian Aktivitas Antimalaria

A. Preparasi Suspensi Sel Parasit Uji

Kadar parasitemia awal tiap *well* pada pengujian aktivitas antimalaria secara *in vitro* adalah 1% parasitemia dan 5% hematokrit. Dalam 1 *plate* terdapat 24 *well*.

1. Seluruh suspensi dalam petri (\pm 5 mL) dimasukkan tabung falcon steril bertutup 15 ml kemudian disentrifugasi 1500 rpm selama 5 menit. Sebanyak 4,5 ml supernatan dibuang sehingga diperkirakan terdapat 5% sel darah merah terinfeksi parasit dan 50% hematokrit dengan jumlah total \pm 500 μ L.
2. Dibuat suspensi sel parasit agar kandungan parasitemia menjadi 1% dan hematokrit menjadi 10%, dengan menambahkan larutan RBC 50% sebanyak 2000 μ L ke dalam tabung, kemudian ditambahkan larutan media lengkap sebanyak 10,0 ml, kemudian suspensi tersebut dicampur dengan hati-hati menggunakan mikropipet hingga tercampur rata.
3. Sebelum dimasukkan ke dalam *microwell*, dibuat hapusan darah tipis sebagai D0, yaitu kadar parasitemia awal pada jam ke-0 sebelum diberi zat uji.
4. Dimasukkan sebanyak 500 μ L suspensi sel parasit ke dalam masing-masing *well* yang sudah berisi 500 μ L larutan uji. Volume suspensi sel dibuat cukup untuk 24 *well*.

B. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. Masing-masing sampel dibuat dengan konsentrasi 100; 10; 1; 0,1; dan 0,01 ppm. Prosedur preparasi sampel adalah sebagai berikut:

1. Masing-masing ekstrak ditimbang sejumlah 10 mg, lalu dilarutkan dalam 100 μL DMSO (dimetil sulfoksida) sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100000 $\mu\text{g/mL}$.
2. Larutan baku induk 100000 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 10 μL , kemudian ditambah 490 μL media lengkap sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/mL}$.
3. Larutan baku induk 2000 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 120 μL dan dimasukkan ke dalam *microwell*. Kemudian ditambahkan 1080 μL media lengkap sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara memipet 500 μL larutan 200 $\mu\text{g/mL}$ tersebut, lalu dimasukkan ke *well* di bawahnya dan masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit. Selanjutnya larutan tersebut disebut dengan D1 dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$.
4. Larutan baku induk 200 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 120 μL lalu dimasukkan ke *microwell*. Kemudian ditambah 1080 μL media lengkap (20 $\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara

memipet 500 μL larutan 20 $\mu\text{g/mL}$ tersebut, lalu dimasukkan ke *well* di bawahnya dan masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit. Selanjutnya larutan tersebut disebut dengan D2 dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$.

5. Larutan baku 20 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 120 μL lalu dimasukkan ke *microwell*. Kemudian ditambah 1080 μL media lengkap (2 $\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara memipet 500 μL larutan 2 $\mu\text{g/mL}$ tersebut, lalu dimasukkan ke *well* di bawahnya dan masing-masing *well* di bawahnya dan masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit. Selanjutnya larutan disebut dengan D3 dengan konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$.
6. Larutan baku 2 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 120 μL lalu dimasukkan ke *microwell*. Kemudian ditambah 1080 μL media lengkap (0,2 $\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara memipet 500 μL larutan 0,2 $\mu\text{g/mL}$ tersebut, lalu dimasukkan ke *well* di bawahnya. Masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit. Selanjutnya larutan tersebut disebut dengan D4 dengan konsentrasi 0,1 $\mu\text{g/mL}$.
7. Larutan baku 0,2 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 120 μL lalu dimasukkan ke *microwell*. Kemudian ditambah 1080 μL media lengkap (0,02 $\mu\text{g/mL}$). Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara memipet 500 μL larutan 0,02 $\mu\text{g/mL}$ tersebut, lalu dimasukkan ke *well*

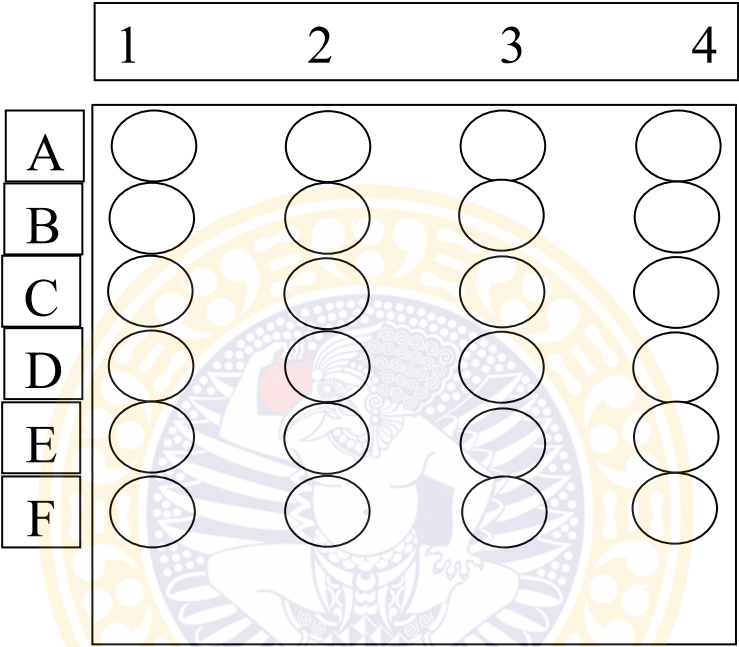
di bawahnya. Masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit. Selanjutnya larutan tersebut disebut dengan D5 dengan konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/mL}$.

C. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

1. Memipet 10 μL larutan DMSO kemudian ditambah 490 μL media lengkap.
2. Memipet 100 μL dari larutan (1) kemudian ditambah 900 μL media lengkap (setara dengan konsentrasi D2 (10 $\mu\text{g/mL}$)).
3. Larutan (2) dipipet sebanyak 120 μL dan dimasukkan ke dalam *microwell*. Kemudian ditambahkan 1080 μL media lengkap. Selanjutnya dilakukan duplikasi dengan cara memipet 500 μL larutan tersebut, lalu dimasukkan ke *well* di bawahnya dan masing-masing *well* kemudian ditambah 500 μL suspensi parasit.

D. Preparasi Lempeng Sumur Mikro

Uji aktivitas antimalaria pada penelitian ini dilakukan dalam *microwell plate disposable* yang steril. Microwell terdiri dari 24 *well* dengan 6 baris (A-F) dan 4 kolom (1-4) yang diberi larutan uji dan kontrol negatif.



Gambar 4.2 Denah *microwell plate*

Keterangan:

Kolom A Baris 1-4 = D1 = Larutan ekstrak 100 µg/mL

Kolom B Baris 1-4 = D2 = Larutan ekstrak 10 µg/mL

Kolom C Baris 1-4 = D3 = Larutan ekstrak 1 µg/mL

Kolom D Baris 1-4 = D4 = Larutan ekstrak 0,1 µg/mL

Kolom E Baris 1-4 = D5 = Larutan ekstrak 0,01 µg/mL

Kolom F Baris 1-4 = K- = Kontrol negatif

Pada penelitian ini digunakan dua buah *microwell*. *Microwell* pertama pada kolom 1 dan 2 diisi larutan uji ekstrak n-heksana, sedangkan kolom 3 dan 4 diisi larutan uji ekstrak kloroform. Larutan uji ekstrak etanol diisikan pada dua kolom yang terdapat pada *microwell* kedua. Masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak dua kali. *Microwell* yang telah diisi larutan uji dan suspensi parasit selanjutnya dimasukkan dalam *candle jar* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

4.5.6 Pengamatan Hasil

1. Setelah 48 jam, kira-kira 950 μL bagian atas suspensi dalam *microwell* dibuang, kemudian dibuat sediaan hapusan darah tipis.
2. Sediaan hapusan darah tipis diwarnai dengan Giemsa 20% dengan metode yang sama seperti pada 4.5.4.A.
3. Setelah kering, hapusan darah tipis kemudian diperiksa dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10 x 100.
4. Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase parasitemia seperti pada 4.5.7.

4.5.7 Pengolahan Data

A. Perhitungan Persentase Parasitemia

Persen parasitemia diperoleh dengan cara menghitung jumlah eritrosit terinfeksi parasit malaria dalam 5000 eritrosit yang diamati dikalikan 100%.

$$\text{Persen Parasitemia} = \left(\frac{\text{Jumlah eritrosit yang terinfeksi}}{5000} \right) \times 100\%$$

B. Perhitungan Persentase Pertumbuhan

Persen pertumbuhan diperoleh dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Persen Pertumbuhan} = \text{Persen parasitemia tiap konsentrasi uji} - \text{Rerata persen parasitemia } D_0$$

Keterangan:

D_0 = persen parasitemia sebelum dilakukan uji

C. Perhitungan Persentase Penghambatan

$$\text{Persen penghambatan} = 100\% - \left(\left(\frac{X_u}{X_k} \right) \times 100\% \right)$$

Keterangan:

X_u = persen pertumbuhan larutan uji

X_k = persen pertumbuhan pada kontrol negatif

D. Perhitungan IC_{50}

IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang dapat menghambat pertumbuhan parasit sebanyak 50%. Perhitungan IC_{50} dilakukan dengan menggunakan analisis Probit (*probability unit*) yaitu dengan membuat kurva hubungan antara probit persen penghambatan dengan

logaritma konsentrasi sampel menggunakan persamaan garis regresi linier.

4.5.8 Skrining Fitokimia

A. Skrining untuk Golongan Terpenoid

1. Sedikit ekstrak ditambah beberapa tetes n-heksana, diaduk sampai larut, kemudian ditotolkan pada fase diam.
2. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan:
Fase diam : Kiesel gel GF 254
Fase gerak : n-heksana – etil asetat (4 : 1)
Penampak noda : Pereaksi anisaldehid asam sulfat
3. Adanya terpenoid atau steroid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu. (Anonim, 2013)

B. Skrining untuk Golongan Polifenol dan Tanin

1. 0,3 gram ekstrak ditambah dengan 10 ml akuades panas, kemudian diaduk dan dibiarkan sampai mencapai suhu kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, kemudian diaduk, setelah itu disaring.
2. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan:
Fase diam : Kiesel gel GF 254
Fase gerak : Kloroform: etil asetat : asam formiat (0,5 : 9 : 0,5)

Penampak noda : Pereaksi FeCl_3

Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel. (Anonim, 2013)

a. Uji Gelatin

1. Larutan preparasi sampel (1) \pm 3 ml digunakan sebagai blanko dan \pm 3 ml ditambah dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml larutan NaCl 10%.
2. Jika terjadi endapan putih menunjukkan adanya tannin. (Anonim, 2013).

b. Uji Ferriklorida

1. Larutan preparasi sampel (1) \pm 3 ml diberi beberapa tetes larutan FeCl_3 , kemudian diamati terjadinya perubahan warna.
2. Jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. (Anonim, 2013)

C. Skrining untuk golongan Alkaloid

1. Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah 2 ml etanol 96%, diaduk sampai larut, lalu ditambah 5 ml HCl 2N dan dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk.
2. Setelah dingin, ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata, kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 ml HCl 2N.
3. Kemudian ditambahkan NH_4OH pekat sampai larutan menjadi basa, kemudian diekstraksi dengan 5 ml kloroform bebas air.
4. Fase kloroform (bagian bawah) diambil dengan memakai pipet, dikumpulkan dalam cawan kemudian diuapkan di lemari asam. Selanjutnya siap untuk pemeriksaan dengan uji KLT

Fase diam : Kiesel gel GF 254

Fase gerak : Kloroform – etil asetat (1 : 1)

Penampak noda : Pereaksi Dragendorf

4. Jika timbul warna jingga maka menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak. (Anonim, 2013)



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Ekstraksi Daun *Acalypha indica* L. secara Maserasi

Berat serbuk simplisia daun *Acalypha indica* L. yang diperoleh dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur adalah 275 gram.

Tabel V.1 Berat dan rendemen hasil ekstraksi daun *Acalypha indica* L. secara maserasi dengan berat bahan awal ekstraksi 50 gram dan perbandingan pelarut 1 : 5 b/v.

Hasil Ekstraksi	Berat (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak N- Heksana	0,5014	1,00
Ekstrak Kloroform	0,6271	1,25
Ekstrak Etanol 96%	1,2791	2,56

5.2 Hasil Uji Aktivitas Antimalaria

Tabel V.2 Rata-rata persen parasitemia pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* setelah pemberian ekstrak daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam. Persentase parasitemia dihitung dengan 5000 eritrosit

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Rata-rata Persen Parasitemia (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
D ₀	0,91	0,88	0,44
Kontrol (-)	3,18	3,95	2,86
100	2,70	1,46	2,13
10	2,82	2,94	2,53
1	2,89	3,33	2,68
0,1	2,96	3,43	2,82
0,01	3,35	4,23	3,18

Tabel V.3 Rata-rata persentase pertumbuhan *P. falciparum* setelah pemberian ekstrak daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam.

Konsentrasi Sampel (µg/ml)	Rata-rata Persen Pertumbuhan (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
Kontrol (-)	2,27	3,07	2,42
100	1,79	0,58	1,69
10	1,91	2,06	2,09
1	1,98	2,47	2,24
0,1	2,05	2,55	2,38
0,01	2,44	3,35	2,74

Tabel V.4 Rata-rata persentase penghambatan *P. falciparum* setelah pemberian ekstrak daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam.

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Rata-rata Persen Penghambatan (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
100	20,93	81,11	29,96
10	15,86	32,90	13,64
1	12,56	19,54	7,44
0,1	9,47	16,94	1,65
0,01	0	0	0

Tabel V.5 Nilai IC_{50} uji aktivitas antimalaria ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L.

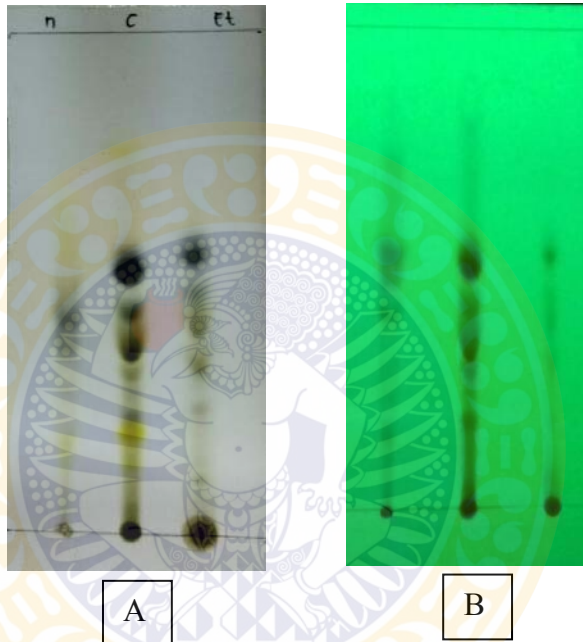
Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	*Aktivitas
Ekstrak n- heksana	43787,79	Inaktif
Ekstrak Kloroform	13,14	Aktif
Ekstrak etanol 96%	950,41	Inaktif

*Berdasarkan Chinchilla *et al.*, 2012, aktivitas antimalaria suatu ekstrak dinyatakan sangat aktif bila $IC_{50} < 5 \mu\text{g/ml}$, aktif bila $IC_{50} > 5-50 \mu\text{g/ml}$, kurang aktif bila $IC_{50} > 50-100 \mu\text{g/ml}$, inaktif bila memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$.

5.3 Hasil Profil Kromatogram Ekstrak N- heksana, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L..

Pada profil kromatografi ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. sebelumnya dilakukan eluasi terlebih dahulu menggunakan eluen dengan komposisi n-heksan : etil asetat (7 : 3). Kemudian dilakukan skrining profil kromatogram.

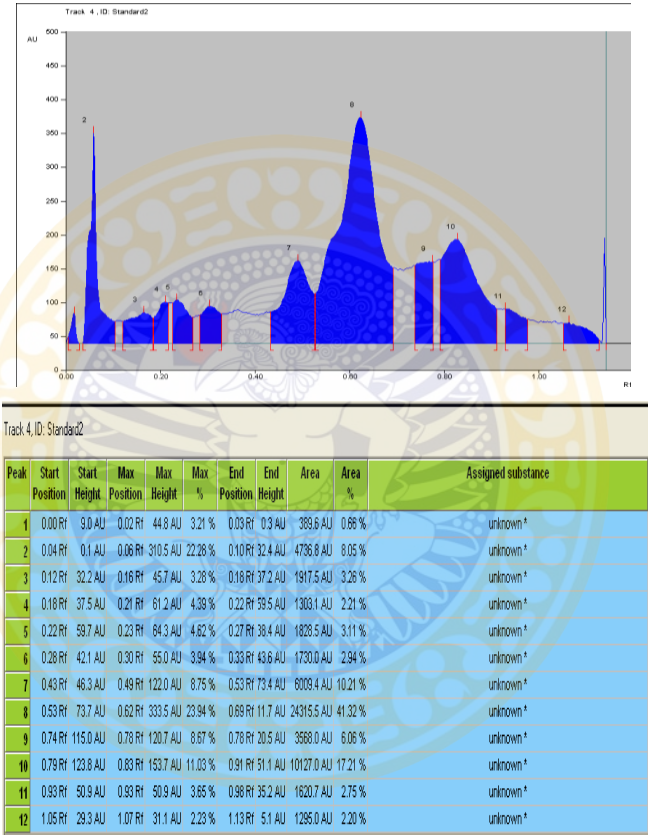
5.3.1 Hasil Eluasi Ekstrak N- heksan, Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L. menggunakan eluen dengan komposisi n-heksan : etil asetat (7 : 3).



Gambar 5.1 Hasil Eluasi Menggunakan Eluen dengan Komposisi N-heksan : Etil asetat (7 : 3). (A) Setelah Eluasi , (B) Setelah Eluasi Dilihat dengan Sinar UV pada Panjang Gelombang 254 nm.

5.3.2 Profil Kromatogram Ekstrak N- heksan Daun *Acalypha indica* L.

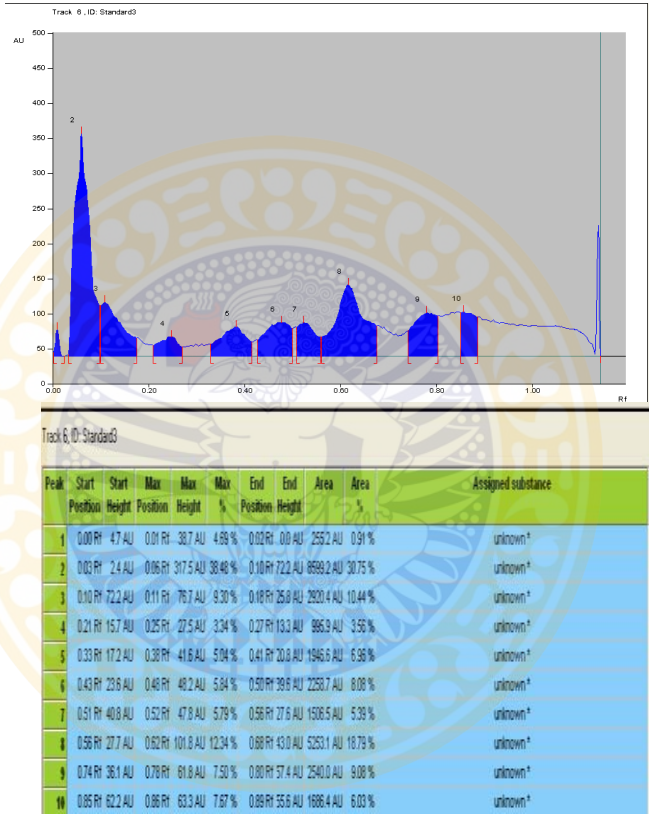
Dari hasil profil kromatografi terdapat 12 peak pada ekstrak n- heksan daun *Acalypha indica* L.



Gambar 5.2 Profil Kromatogram Ekstrak N- heksan Daun *Acalypha indica* L.

5.3.4 Profil Kromatogram Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L.

Dari hasil profil kromatografi terdapat 10 peak pada ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L.

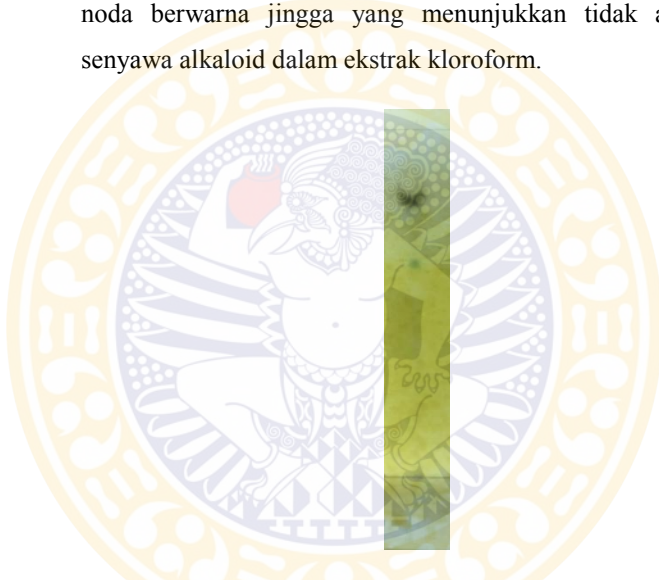


Gambar 5.4 Profil Kromatogram Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L.

5.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kloroform Daun *Acalypha indica* L..

5.4.1 Identifikasi Senyawa Alkaloid

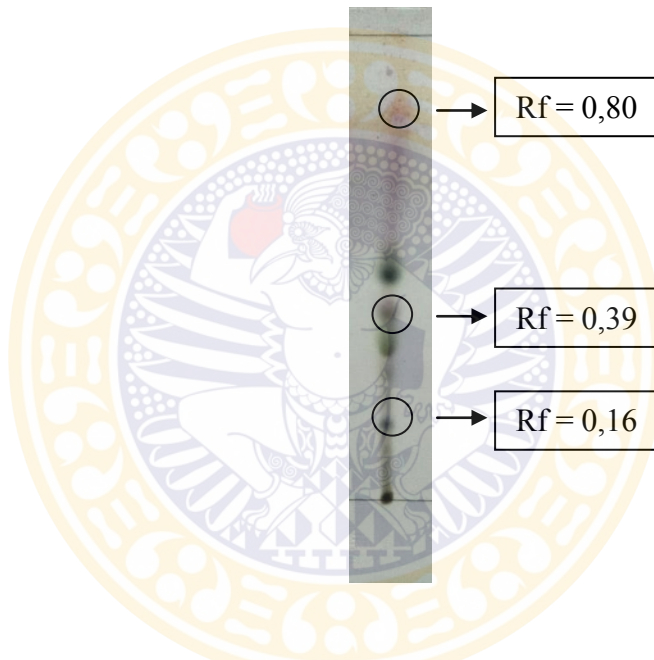
Identifikasi senyawa dilakukan dengan eluen kloroform : etil asetat (1 : 1) dan penampak noda Dragendorf. Setelah plat KLT disemprot dengan penampak noda, tidak muncul noda berwarna jingga yang menunjukkan tidak adanya senyawa alkaloid dalam ekstrak kloroform.



Gambar 5.5 Plat KLT Setelah Dieluasi Dengan Eluen Kloroform : Etil Asetat (1 : 1) dan Disemprot dengan Penampak Noda Dragendorf.

5.4.2 Identifikasi Senyawa Terpenoid

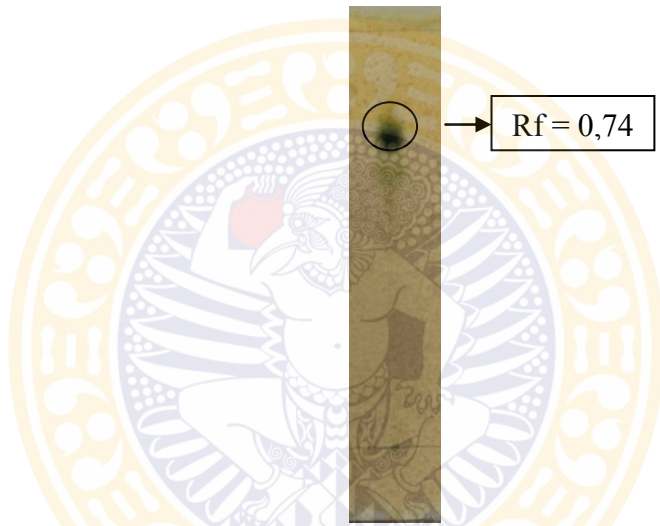
Pada identifikasi senyawa terpenoid ini digunakan komposisi eluen n-heksana : etil asetat (4 : 1) dan disemprot dengan penampak noda anisaldehyde asam sulfat. Pada plat KLT timbul noda warna ungu yang menunjukkan adanya kandungan terpenoid dalam ekstrak kloroform.



Gambar 5.6 Plat KLT Setelah Dieluasi dengan Eluen N-heksana : Etil Asetat (4 : 1) dan Disemprot dengan Penampak Noda Anisaldehyde Asam Sulfat.

5.4.3 Identifikasi Senyawa Tanin

Pada identifikasi senyawa tanin ini digunakan komposisi eluen kloroform: etil asetat : asam formiat (0,5 : 9 : 0,5) dan disemprot dengan penampak noda FeCl_3 . Pada plat KLT timbul noda warna hitam yang menunjukkan adanya kandungan tanin dalam ekstrak kloroform.



Gambar 5.7 Plat KLT Setelah Dieluasi dengan Eluen Kloroform : Etil Asetat : Asam Formiat (0,5 : 9 : 0,5) dan Disemprot dengan Penampak Noda FeCl_3 .

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antimalaria pada ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. terhadap *P. falciparum* secara *in vitro*. Dari ketiga ekstrak tersebut dapat diketahui aktivitas antimalaria dari masing – masing ekstrak berdasarkan hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan serbuk simplisia daun *Acalypha indica* L. yang diperoleh dan dideterminasi dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Pemilihan daun *Acalypha indica* L. didasari oleh penelitian sebelumnya yaitu uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* yang menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria (Hayati *et al.*, 2012).

Serbuk simplisia daun *Acalypha indica* L. diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan etanol 96%. Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritas senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Acalypha indica* L.. Pada penelitian sebelumnya senyawa yang diduga aktif sebagai antimalaria pada uji aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. secara *in vivo*, yaitu alkaloid, tanin dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut terkandung dalam ekstrak etil asetat yang bersifat semipolar. Akan tetapi tidak semua senyawa yang diduga aktif terhadap *P. berghei* pada uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* juga aktif terhadap *P. falciparum*.

Tahap selanjutnya, serbuk simplisia daun *Acalypha indica* L. sebanyak 50 gram direndam dalam pelarut n-heksana sebanyak 5 kali berat serbuk yaitu 250 mL selama 24 jam. Pada tahap ini dilakukan maserasi ulang sebanyak tiga kali dengan pelarut yang sama. Setelah itu

dilanjutkan dengan perendaman menggunakan pelarut kloroform dan etanol 96% dengan perlakuan yang sama seperti pada perendaman dengan pelarut n-heksana. Sebanyak dua kali ekstraksi dengan pelarut yang sama mampu menarik 99% senyawa secara efektif (Sarker *et al.*, 2006) sehingga pada ekstraksi yang ketiga kalinya diharapkan dapat menarik lebih dari 99% senyawa dari serbuk simplisia. Selanjutnya pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 40 °C hingga didapatkan berat ekstrak yang stabil.

Pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*, metode pembiakan parasit dilakukan dengan menggunakan metode Trager dan Jensen (1976) yaitu menggunakan *candle jar* untuk meminimalkan gas O₂ sebab parasit tumbuh optimal pada sedikit gas O₂ rendah dan 5% CO₂ (Jensen, 2002). Ekstrak daun *Acalypha indica* L. yang akan diuji terlebih dahulu dilarutkan dengan DMSO (dimetil sulfoksida) dan dimasukkan ke dalam *microwell* kemudian ditambahkan media lengkap dan 500 µL suspensi parasit sehingga didapatkan konsentrasi bahan uji sebesar 100, 10, 1, 0,1, dan 0,01 µg/mL. Konsentrasi DMSO dalam *well* pada konsentrasi bahan uji tertinggi tidak lebih dari 1% (WHO, 2015). *Microwell* diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam sesuai dengan durasi satu siklus aseksual pada eritrosit. Setelah 48 jam, bagian media lengkap pada suspensi parasit dibuang dan dibuat hapusan tipis dari darah yang telah bersih dari media lengkap. Hapusan darah tipis difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan Giemsa 20% lalu didiamkan selama 20 menit. Hapusan darah tipis selanjutnya dihitung jumlah parasit yang terinfeksi dengan mikroskop dengan perbesaran 10 x 100 sebanyak 5000 eritrosit.

Berdasarkan hasil pengolahan data, seperti yang tercantum dalam tabel hasil persen penghambatan menunjukkan bahwa konsentrasi bahan uji berbanding lurus dengan persen penghambatannya terhadap

parasit. Semakin besar konsentrasi bahan uji maka semakin tinggi persen penghambatannya. Suspensi parasit yang diberi ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform dan ekstrak etanol 96% terjadi penurunan persen penghambatan seiring dengan menurunnya konsentrasi bahan uji, akan tetapi pada konsentrasi bahan uji 0,01 $\mu\text{g/mL}$ penghambatan sudah tidak terjadi lagi untuk ketiga ekstrak tersebut. Hasil persentase penghambatan dianalisa dengan metode log-probit untuk mendapatkan nilai IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan parasit sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} yang didapat maka semakin besar efektivitas penghambatan bahan uji terhadap pertumbuhan parasit. Berdasarkan (Chinchilla *et al.*, 2012) aktivitas antimalaria suatu ekstrak dinyatakan sangat aktif bila $\text{IC}_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$; aktif bila $\text{IC}_{50} > 5-50 \mu\text{g/mL}$; kurang aktif bila $\text{IC}_{50} > 50-100 \mu\text{g/mL}$; dan inaktif bila memiliki $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Dari hasil analisis probit, didapatkan IC_{50} untuk ekstrak n-heksana sebesar 43787,79 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Chinchilla *et al.*, 2012, hasil tersebut termasuk kategori inaktif. IC_{50} untuk ekstrak kloroform sebesar 13,14 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Chinchilla *et al.*, 2012, hasil tersebut termasuk kategori aktif. Dan IC_{50} untuk ekstrak etanol 96% sebesar 950,41 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Chinchilla *et al.*, 2012, hasil tersebut termasuk kategori inaktif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria.

Berdasarkan hasil profil kromatografi dari ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. yang sebelumnya dievaluasi menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (7 : 3) menunjukkan bahwa pada ekstrak n-heksan terdapat 12 peak, pada ekstrak kloroform terdapat 13 peak, dan pada ekstrak etanol 96% terdapat 10 peak. Dilihat dari hasil profil kromatogram, didapatkan R_f yang tidak

terdapat pada ekstrak n-Heksan dan Etanol 96% akan tetapi Rf tersebut hanya terdapat pada ekstrak kloroform. Rf tersebut yang diduga memiliki aktivitas antimalaria.

Dari ketiga ekstrak tersebut, ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria, dengan dugaan senyawa yang terdapat pada ekstrak kloroform tersebut adalah senyawa golongan alkaloid, tanin dan steroid. Kemudian dilakukan uji pewarnaan untuk menunjukkan kebenaran dugaan senyawa yang terdapat pada ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L.. Untuk senyawa golongan alkaloid menggunakan penampak noda dragendorff, senyawa golongan steroid menggunakan penampak noda anisaldehida asam sulfat dan senyawa golongan tanin menggunakan penampak noda FeCl_3 . Setelah dilakukan uji pewarnaan, senyawa golongan alkaloid tidak terdeteksi, senyawa golongan steroid terdeteksi dan senyawa golongan tanin juga terdeteksi. Berdasarkan hasil tersebut maka dugaan senyawa yang memiliki aktivitas antimalaria pada ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. yaitu steroid dan tanin.

Dari hasil penelitian sebelumnya yaitu uji aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. secara *in vivo*, menunjukkan bahwa persen penghambatan rata-rata berada diatas 80% yaitu 84% - 90% dengan dosis 0,01 mg/g bb, 0,1 mg/g bb, 1 mg/g bb. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. memiliki potensi yang sangat bagus dalam menghambat pertumbuhan parasit. Berdasarkan hasil dari kedua penelitian diatas menunjukkan bahwa senyawa semipolar yang terkandung dalam *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria. Pada dasarnya metode dan *Plasmodium* yang digunakan pada uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* dan *in vitro* berbeda, akan tetapi hasil yang didapat dari kedua penelitian tersebut

sama, yaitu menunjukkan adanya aktivitas antimalaria pada ekstrak etil asetat *Acalypha indica* L. dan ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa semipolar yang terkandung dalam *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antimalaria. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan senyawa semipolar yang sudah terbukti memiliki aktivitas antimalaria dari senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam *Acalypha indica* L. dan penelitian lebih lanjut mengenai *Acalypha indica* L. dalam rangka pengembangan obat antimalaria.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L. aktif antimalaria dengan IC_{50} sebesar 13,14 $\mu\text{g/mL}$.
2. Ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. inaktif antimalaria dengan $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa aktif antimalaria dari ekstrak kloroform daun *Acalypha indica* L..

DAFTAR PUSTAKA

- Arsin, A.A. 2012. *Malaria di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*. Makasar : Masagena Press.
- Anonim. 2009. *Tanaman Obat Indonesia Acalypha Indica L.*. www. Iptek. Net. Id. Diakses 27 Februari 2009.
- Anonim. 2013. *Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Chengaiyah, B., Kumar, M. K., Alagusundaram, M., Sasikala, C., Chetty, M. C. 2009. *In Vitro Anthelmintic Activity of Roots of Acalypha indica Linn.*. Annamacharya college of pharmacy, New boyanapalli, Rajampet, Kadapa(Dt), Andhrapradesh, India.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sanchez, R., Mora, V., Bagnarello, V., Martinez, L., Gonzalez, A., Vanegas, J.C., and Apestegui, A. 2012. In vitro antimalarial activity of extracts of some plants from a biological reserve in Costa Rica, *Int. J. Trop. Biol.*, Vol. 60 (2), p. 881-891.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Buku Saku Eliminasi Malaria*. Jakarta: Direktorat PPBB, DitJen PP dan PL.
- Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafrialdi, dan Elysabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Hayati, K.E., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. *Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L.)*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Inbaneson, J. S., Ravikumar, S., Suganthi, P. 2012. *In vitro* antiparasmodial effect of ethanolic extracts of coastal medicinal

plants along Palk Strait against *Plasmodium falciparum*. India: *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*.

IPTEKnet. 2010. *Anting-anting (Acalypha australis Linn.)* Dalam : Tanaman Obat Indonesia. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=24 diakses pada 25 Maret 2010.

Jensen, J.B. 2002. In vitro culture of *Plasmodium* parasites. *Methods Mol Med*, Vol. 72, p. 477-488.

Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Buletin "Jendela Data dan Informasi Kesehatan": Epidemiologi Malaria di Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Mohideen, S.K.A., Selvan, T.R., Sheriff, A.M., Azmathullah, Md.N. 2012. Phytochemical Screening of *Acalypha indica* L. Leaf Extracts. India: *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*.

Muslim, H.M. 2009. *Parasitologi untuk Keperawatan*. Jakarta: EGC.

NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2015. *Taxonomy Browser (Plasmodium falciparum)*. Diakses dari www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5833&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=f pada tanggal 11 Agustus 2015.

Oudhia.P, (2003). Traditional medicinal uses in India. *J. Planta Med*. Vol 15(5) 175-179.

Plantamor. 2008. *Anting-anting (Acalypha australis L.)* Dalam : Informasi Dunia Tumbuhan. <http://www.plantamor.com/index.php?about=yes> Diakses pada 25 Maret 2010.

- Sarker, D.S., Latif, Z., Gray, I.A. 2006. ***Natural Product Isolation Second Edition***. Totowa, New Jersey: Humana Press.
- Simanjuntak, P. 1995. ***Plant as Sources of Antimalarial Compounds***. Cibinong: Puslitbang Bioteknologi-LIPI.
- Taylor, R.S.L, N.P.Manandhar and J.B.Hudson (1996). Antiviral activities of Nepalese medicinal plants. ***J. Ethnopharmacol.*** Vol 52 157-163.
- Trager, W. and Jensen, J.B. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. ***Science***, Vol. 193, p. 673-675.
- Wei-Fang, D., L., Zong-Wen, & S., Han-Dong. 1994. ***A New Compound From Acalypha australis L.***. Laboratory of Phytochemistry. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences.
- Widyawaruyanti, A., Devi, P. A., Fitria, N., Tumewu, L., Tantular, S. I., Hafid, F. A. 2014. ***In Vitro Antimalarial Activity Screening of Several Indonesian Plants Using HRP2 Assay***. Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.
- WHO (World Health Organization). 2014. ***World Malaria Report 2015***. Geneva: WHO Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Data Jumlah Parasitemia

Data jumlah eritrosit terinfeksi *P. falciparum* per 5000 eritrosit setelah pemberian ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam pada uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*.

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah parasitemia per 5000 eritrosit					
	Ekstrak n-heksana		Ekstrak Kloroform		Ekstrak Etanol 96%	
	Rep 1	Rep 2	Rep 1	Rep 2	Rep 1	Rep 2
D_0	38/5075	40/5120	50/5146	40/5016	21/5084	25/5125
Kontrol (-)	187/5016	167/5075	202/5069	180/5115	119/5120	149/5012
100	132/5031	140/5005	77/5069	72/5076	108/5024	109/5034
10	140/5040	148/5175	146/5044	152/5070	132/5010	125/5143
1	145/5037	150/5152	157/5190	186/5060	139/5115	134/5049
0,1	148/5005	150/5031	171/5152	179/5049	149/5075	141/5198
0,01	165/5092	176/5076	210/5017	215/5016	157/5134	168/5082

Keterangan :

D_0 = jumlah eritrosit terinfeksi per 5000 eritrosit pada jam ke-0

Kontrol (-) = jumlah eritrosit terinfeksi per 5000 eritrosit pada larutan tanpa sampel

Lampiran 2

Cara Perhitungan Persen Parasitemia Dan Data Persen Parasitemia

Untuk menghitung persen parasitemia digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persen parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{\text{jumlah eritrosit total}} \times 100\%$$

Data persen parasitemia setelah pemberian ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam.

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Rata-rata Persen Parasitemia (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
D ₀	0,91	0,88	0,44
Kontrol (-)	3,18	3,95	2,86
100	2,70	1,46	2,13
10	2,82	2,94	2,53
1	2,89	3,33	2,68
0,1	2,96	3,43	2,82
0,01	3,35	4,23	3,18

Lampiran 3

Cara Perhitungan Persen Pertumbuhan dan Data Persen Pertumbuhan

Untuk menghitung persen pertumbuhan digunakan rumus berikut :

Persen pertumbuhan = Persen parasitemia U_n - Persen parasitemia D_0

Keterangan :

Persen parasitemia U_n = Persen parasitemia tiap konsentrasi

Persen parasitemia D_0 = Persen parasitemia pada jam ke-0

Dat perhitungan persentase pertumbuhan *P. falciparum* setelah pemberian ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam.

Konsentrasi Sampel (µg/ml)	Rata-rata Persen Pertumbuhan (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
Kontrol (-)	2,27	3,07	2,42
100	1,79	0,58	1,69
10	1,91	2,06	2,09
1	1,98	2,47	2,24
0,1	2,05	2,55	2,38
0,01	2,44	3,35	2,74

Lampiran 4

Cara Perhitungan Persen Penghambatan dan Data Persen Penghambatan

Untuk menghitung persen penghambatan digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persen Penghambatan} = 100 - \left(\frac{X_u}{X_k} \times 100\% \right)$$

Keterangan :

X_u = Persen pertumbuhan tiap konsentrasi uji

X_k = Persen pertumbuhan pada kontrol negatif

Data perhitungan persentase penghambatan *P. falciparum* setelah pemberian ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol 96% daun *Acalypha indica* L. dan diinkubasi selama 48 jam.

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Rata-rata Persen Penghambatan (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etanol 96%
100	20,93	81,11	29,96
10	15,86	32,90	13,64
1	12,56	19,54	7,44
0,1	9,47	16,94	1,65
0,01	0	0	0

Lampiran 5

Hasil Analisis Probit Ektrak N- Heksana Daun *Acalypha indica* L.**Data Information**

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	14	Yes

Parameter Estimates

						95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.		
PROBIT ^a	dosis	.275	.059	4.687	.000	.160	.390
	Intercept	-1.276	.082	-15.603	.000	-1.357	-1.194

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^b	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	6.576	3	.087 ^a

- a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
 b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.000	100	21	23.393	-2.463	.234
	2	1.000	100	16	15.846	.014	.158
	3	.000	100	13	10.104	2.456	.101
	4	-1.000	100	9	6.051	3.419	.061
	5	-2.000	100	0	3.397	-3.397	.034

Confidence Limits

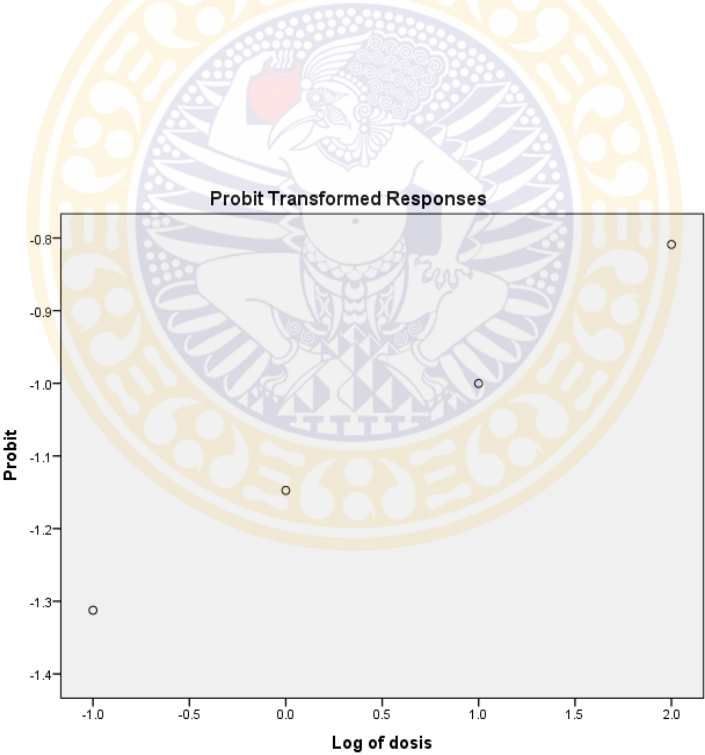
	Probability	95% Confidence Limits for dosis			95% Confidence Limits for log(dosis) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	.000	.	.	-3.823	.	.
	.020	.001	.	.	-2.831	.	.
	.030	.006	.	.	-2.202	.	.
	.040	.019	.	.	-1.728	.	.
	.050	.045	.	.	-1.343	.	.
	.060	.096	.	.	-1.016	.	.
	.070	.187	.	.	-.728	.	.

.080	.338	.	.	-.471	.	.
.090	.580	.	.	-.237	.	.
.100	.952	.	.	-.021	.	.
.150	7.420	.	.	.870	.	.
.200	37.949	.	.	1.579	.	.
.250	153.918	.	.	2.187	.	.
.300	541.219	.	.	2.733	.	.
.350	1735.411	.	.	3.239	.	.
.400	5242.935	.	.	3.720	.	.
.450	15280.816	.	.	4.184	.	.
.500	43787.788	.	.	4.641	.	.
.550	125475.65	.	.	5.099	.	.
	1
.600	365705.52	.	.	5.563	.	.
	9
.650	1104850.7	.	.	6.043	.	.
	95
.700	3542686.3	.	.	6.549	.	.
	63
.750	12457119.	.	.	7.095	.	.
	725
.800	50525324.	.	.	7.704	.	.
	014
.850	258412775	.	.	8.412	.	.
	.960
.900	201443084	.	.	9.304	.	.
	8.086
.910	330794561	.	.	9.520	.	.
	6.245
.920	566979973	.	.	9.754	.	.
	2.232
.930	102535333	.	.	10.011	.	.
	74.080
.940	198721039	.	.	10.298	.	.
	91.267

.950	422660041	.	.	10.626	.	.
	80.386
.960	102577505	.	.	11.011	.	.
	623.582
.970	305095367	.	.	11.484	.	.
	966.745
.980	129932105	.	.	12.114	.	.
	5150.524
.990	127509047	.	.	13.106	.	.
	28641.010

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



Lampiran 6

Hasil Analisis Probit Ekstrak Kloroform Daun *Acalypha indica* L.**Data Information**

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	Dosis	.661	.058	11.317	.000	.546	.775
	Intercept	-.739	.075	-9.817	.000	-.814	-.664

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^b	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	25.233	3	.000 ^a

- a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
- b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.000	100	81	71.987	9.123	.720
	2	1.000	100	33	46.878	-13.978	.469
	3	.000	100	20	22.991	-3.451	.230
	4	-1.000	100	17	8.076	8.864	.081
	5	-2.000	100	0	1.966	-1.966	.020

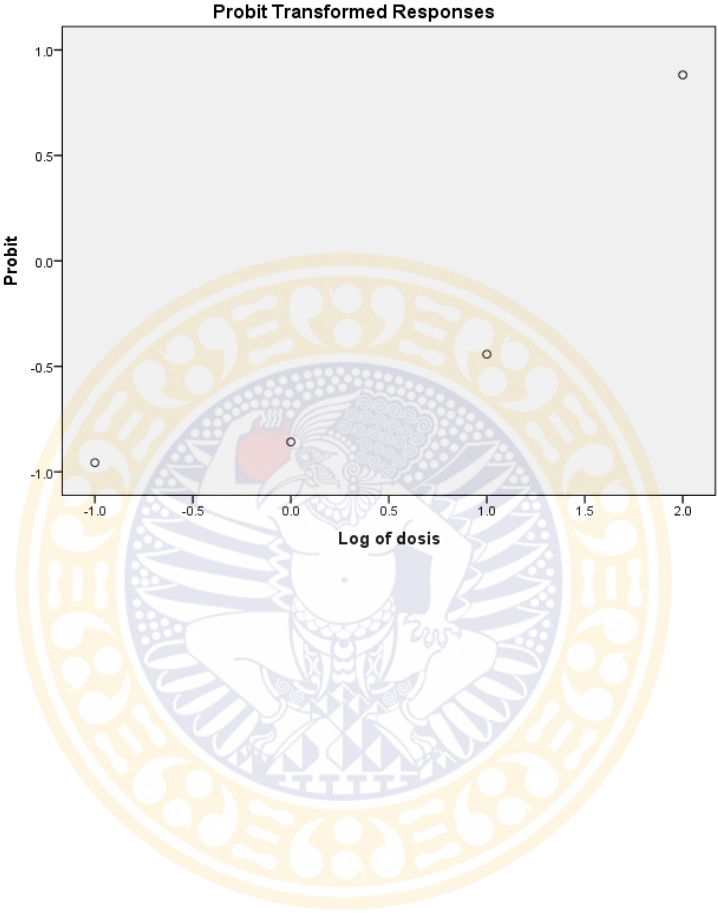
Confidence Limits							
		95% Confidence Limits for dosis			95% Confidence Limits for log(dosis) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	.004	.000	.128	-2.402	-15.588	-.893
	.020	.010	.000	.231	-1.989	-13.381	-.636
	.030	.019	.000	.340	-1.728	-11.986	-.468
	.040	.029	.000	.460	-1.531	-10.941	-.338
	.050	.043	.000	.591	-1.371	-10.094	-.229
	.060	.058	.000	.736	-1.234	-9.375	-.133
	.070	.077	.000	.898	-1.115	-8.748	-.047
	.080	.098	.000	1.079	-1.008	-8.188	.033
	.090	.123	.000	1.282	-.910	-7.682	.108
	.100	.151	.000	1.509	-.821	-7.218	.179
	.150	.355	.000	3.208	-.450	-5.330	.506
	.200	.700	.000	6.759	-.155	-3.893	.830
	.250	1.253	.002	15.579	.098	-2.745	1.193
	.300	2.113	.015	42.949	.325	-1.829	1.633
	.350	3.431	.076	151.999	.535	-1.121	2.182
	.400	5.435	.255	702.292	.735	-.593	2.847
	.450	8.480	.628	4065.930	.928	-.202	3.609
	.500	13.139	1.252	27883.739	1.119	.098	4.445
	.550	20.357	2.184	218361.096	1.309	.339	5.339

	.600			1933144			
		31.765	3.517	.411	1.502	.546	6.286
	.650			1960278			
		50.311	5.405	7.212	1.702	.733	7.292
	.700			2357835			
		81.684	8.119	27.770	1.912	.910	8.373
	.750			3579082			
		137.806	12.152	036.050	2.139	1.085	9.554
	.800			7622758			
		246.712	18.482	4127.88	2.392	1.267	10.882
	.850			2767988			
		486.408	29.327	776701.	2.687	1.467	12.442
	.900			544			
		1142.721	51.009	2612136			
				9675076	3.058	1.708	14.417
	.910			4.600			
		1404.538	58.109	7860241			
				4884042	3.148	1.764	14.895
	.920			8.000			
		1757.374	66.867	2604443			
				1914023	3.245	1.825	15.416
				88.500			
	.930			9735359			
		2248.457	77.927	5241193	3.352	1.892	15.988
				16.000			

.940			4251298			
	2960.804	92.323	3003224	3.471	1.965	16.629
			704.000			
.950			2287448			
	4052.552	111.831	7393597	3.608	2.049	17.359
			4912.00			
			0			
.960			1655135			
	5859.841	139.804	9895148	3.768	2.146	18.219
			80770.0			
			00			
.970			1890359			
	9221.016	183.498	2445974	3.965	2.264	19.277
			462000.			
			000			
.980			4832161			
	16846.65	262.473	6848595	4.227	2.419	20.684
	2		6400000			
			.000			
.990			8045441			
	43555.21	458.393	1064287	4.639	2.661	22.906
	4		0700000			
			00.000			

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



Lampiran 7

Hasil Analisis Probit Ekstrak Etanol 96% Daun *Acalypha indica* L.

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	15	Yes

Parameter Estimates

		Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	Dosis	.531	.080	6.613	.000	.374	.688
	Intercept	-1.581	.117	-13.486	.000	-1.698	-1.464

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^b	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.074	3	.783 ^a

- a. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
- b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.000	100	30	30.182	-.222	.302
	2	1.000	100	14	14.684	-1.044	.147
	3	.000	100	7	5.694	1.746	.057
	4	-1.000	100	2	1.735	-.085	.017
	5	-2.000	100	0	.411	-.411	.004

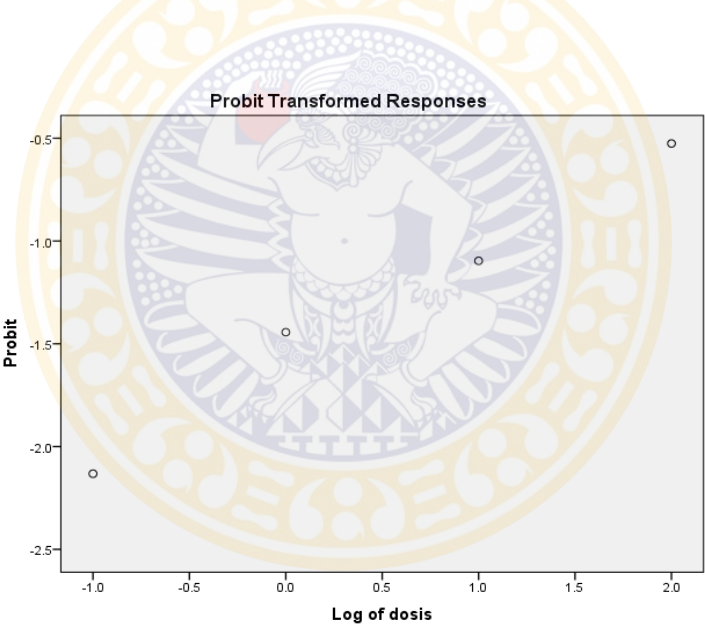
Confidence Limits

		95% Confidence Limits for dosis			95% Confidence Limits for log(dosis) ^a		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.039	.003	.163	-1.404	-2.486	-.787
	.020	.129	.017	.422	-.890	-1.772	-.375
	.030	.272	.048	.778	-.565	-1.323	-.109
	.040	.479	.103	1.243	-.320	-.989	.094
	.050	.758	.190	1.832	-.120	-.721	.263
	.060	1.120	.320	2.567	.049	-.495	.409
	.070	1.578	.501	3.473	.198	-.300	.541
	.080	2.145	.744	4.582	.331	-.129	.661
	.090	2.835	1.059	5.935	.452	.025	.773

.100	3.664	1.455	7.580	.564	.163	.880
.150	10.610	5.004	22.682	1.026	.699	1.356
.200	24.697	11.983	60.396	1.393	1.079	1.781
.250	50.986	23.746	149.356	1.707	1.376	2.174
.300	97.760	42.355	348.959	1.990	1.627	2.543
.350	178.702	70.981	781.513	2.252	1.851	2.893
.400	316.746	114.476	1699.847	2.501	2.059	3.230
.450	551.084	180.374	3633.245	2.741	2.256	3.560
.500	950.410	280.645	7714.214	2.978	2.448	3.887
.550	1639.095	434.927	16444.200	3.215	2.638	4.216
.600	2851.745	676.712	35593.201	3.455	2.830	4.551
.650	5054.675	1065.979	79263.201	3.704	3.028	4.899
.700	9239.784	1717.079	184684.370	3.966	3.235	5.266
.750	17716.059	2866.720	461002.287	4.248	3.457	5.664
.800	36574.033	5063.614	1279028.118	4.563	3.704	6.107
.850	85136.812	9809.375	4209908.790	4.930	3.992	6.624
.900	246500.268	22492.575	1888912.7910	5.392	4.352	7.276
.910	318663.220	27476.414	2715195.4651	5.503	4.439	7.434
.920	421189.317	34146.023	4027615.4891	5.624	4.533	7.605
.930	572378.371	43357.380	6214357.2402	5.758	4.637	7.793
.940	806219.501	56603.687	1008816.52969	5.906	4.753	8.004


.950	1191588. 664	76704.89 1	1753331 37.942	6.076	4.885	8.244
.960	1885690. 338	109595.5 05	3357235 98.759	6.275	5.040	8.526
.970	3315419. 588	169899.5 22	7463216 42.063	6.521	5.230	8.873
.980	7019624. 353	304173.9 90	2159239 371.881	6.846	5.483	9.334
.990	22896873 .304	761091.2 74	1152971 8261.53 1	7.360	5.881	10.062

a. Logarithm base = 10.



Lampiran 8

Surat determinasi daun *Acalypha indica* L.

 DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074/582/101.8/2015
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Anting-anting</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: Dr. Wiwied Ekasari, M.Si., Apt.
NIP	: 19690122 199403 2 001
Instansi	: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.
1. Perihal determinasi tanaman anting-anting Kingdom : Plantae (Tumbuhan) Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji) Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledonae (berkeping dua / dikotil)) Sub Kelas : Rosidae Bangsa : Euphorbiales Suku : Euphorbiaceae Marga : Acalypha Jenis : <i>Acalypha indica</i> L. Sinonim : <i>Acalypha australis</i> Linn. Nama Daerah : Cekamas (Melayu); anting-anting, lelatang, kucing-kucingan, rumput kokowongan (Sunda); rumput bolong-bolong (Jawa). Kunci Determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124b-125b-239a-240b-241a-1b-3a-4b-5b-6b-7b-9b.	
2. Morfologi : Habitus: Semak, tinggi ±1.5 m. Batang: Tegak, masif, bulat, berambut, halus, hijau. Daun: Tunggal, tersebar, bentuk belah ketupat, ujung runcing, pangkal membulat, tipis, tepi bergerigi, pertulangan menyirip, panjang 3-4 cm, lebar 2-3 cm, tangkai silindris, panjang 3-4 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bulir, berkelamin satu, di ketiak daun dan ujung cabang, bulir betina lebih pendek, lebih tegak dan lebih jorong dari pada bulir jantan, daun pelindung menjari, terbagi dalam 5-15 tajuk yang sempit, bunga jantan duduk dalam gelendong sepanjang sumbu bulir, bakal buah beruang tiga, berambut, tangkai putik silindris, putih kehijauan atau merah pucat, mahkota bulat telur, merah, bertaju, berambut, merah. Buah: Kotak, bulat, hitam. Biji: Bulat panjang, coklat. Akar: Tunggang, putih kotor.	
3. NamaSimplisia : Acalyphae Herba/ Herba Kucing-kucingan	
4. Kandungan kimia : Daun mengandung saponin, tannin, minyak atsiri. Batang mengandung saponin, tannin, flavonoid. Akar mengandung saponin dan tannin.	
5. Penggunaan : Penelitian.	
6. Daftar Pustaka <ul style="list-style-type: none"> ▪ Anonim. http://www.iptek.net.id/anting-anting, diakses 21 Oktober 2010. ▪ Anonim. http://www.plantamor.com/anting-anting, diakses 11 Desember 2010. ▪ Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/kucing-kucingan, diakses 9 Mei 2007. ▪ Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1</i>. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. ▪ Van Steenis, CGGJ. 2008. <i>FLORA</i>. Pradnya Paramita, Jakarta. 	

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 22 Desember 2015

Kepala UPT Materia Medica Batu


 Dr. Husein R.M. Drs. Ant M.Kes